

Interactions entre processus microbiens, cycle des nutriments et fonctionnement du couvert herbacé: cas de la nitrification dans les sols d'une savane humide de Côte d'Ivoire sous couvert à Hyparrhenia diplandra.

Jean-Christophe Lata

▶ **To cite this version:**

Jean-Christophe Lata. Interactions entre processus microbiens, cycle des nutriments et fonctionnement du couvert herbacé: cas de la nitrification dans les sols d'une savane humide de Côte d'Ivoire sous couvert à Hyparrhenia diplandra.. Ecologie, Environnement. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 1999. Français. NNT : . tel-00576611

HAL Id: tel-00576611
https://theses.hal.science/tel-00576611

Submitted on 14 Mar 2011

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.

THESE de DOCTORAT

de l'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE - PARIS VI

Spécialité: ECOLOGIE

Présentée par Jean-Christophe LATA

Pour obtenir le grade de DOCTEUR

De l'UNIVERSITE PARIS VI

Interactions entre processus microbiens, cycle des nutriments et fonctionnement du couvert herbacé: cas de la nitrification dans les sols d'une savane humide de Côte d'Ivoire sous couvert à *Hyparrhenia diplandra*



Soutenue le 13/12/1999
devant le jury composé de:

Philip Ineson	Professeur à l'ITE	Rapporteur
Franck Warembourg	Directeur de recherche CNRS CEFE	Rapporteur
André Mariotti	Professeur de l'Université Paris VI	Président du jury
Jean-Claude Lefeuvre	Professeur au MNHN	Examinateur
Luc Abbadie	Directeur de recherche CNRS ENS Paris VI	Directeur de thèse
Robert Lensi	Directeur de recherche CNRS Lyon I	Co-Directeur de thèse

SOMMAIRE

Pages

RESUME ... **ix**
ABSTRACT ... **x**
REMERCIEMENTS ... **xi**
LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX ... **xvi**

INTRODUCTION GENERALE ... **1**

CHAPITRE I: Problématique générale, définition des objectifs, plan de la thèse ... **4**

Problématique générale ... **5**
Définition des objectifs et plan de la thèse ... **6**

CHAPITRE II: Bases bibliographiques ... **11**

Le processus de nitrification ... **12**
1. Les bactéries nitrifiantes ... **12**
1.1. Taxonomie et phylogénie ... *12*
1.2. Physiologie et métabolismes ... *15*
1.3. Répartition et diversité naturelle des bactéries nitrifiantes ... *16*
2. Les facteurs régulant la nitrification ... **16**
2.1 Substrats et produits ... *16*
2.2 pH du sol ... *17*
2.3 Aération et humidité du sol ... *17*
2.4 Température ... *18*
2.5 Limitation par l'ammonium sous végétation ... *18*
2.6 Limitation par une déficience en nutriments ... *19*
2.7 Eléments traces, pesticides et inhibiteurs spécifiques ... *19*
3. Inhibition par des substances allélopathiques ... **20**
4. Méthodes de mesure de la nitrification dans les sols ... **22**
5. Le processus de nitrification dans les écosystèmes ... **24**
5.1 Variation de la nitrification dans les écosystèmes ... *24*
5.2 Rôle de la nitrification dans les écosystèmes ... *25*
Les savanes ... **27**
1. Définition et importance quantitative des savanes ... **27**
2. Savanes africaines ... **30**
Présentation du milieu ... **32**
1. Localisation et définition de la réserve de Lamto ... **32**
2. Le climat ... **34**
3. Pluviosité et température au cours de la période d'étude (1995-1998) ... **36**
4. Le feu ... **38**
5. Les sols ... **39**
6. La faune et la flore du sol ... **41**
7. La végétation ... **42**
8. Structuration spatiale de l'écosystème ... **44**
9. Le cycle de l'azote à Lamto ... **47**
9.1 Contraintes du milieu et conservation de l'azote à Lamto ... *48*
9.2 Entrées d'azote dans le système sol-plante ... *50*
9.2.1 Apports atmosphériques ... 50
9.2.2 Fixation biologique de l'azote gazeux ... 51
9.2.3 Pluviolessivage ... 53
9.3 Sorties d'azote du système sol-plante ... *54*
9.3.1 Lixiviation ... 54

9.3.2 Dénitrification ... 54
9.3.3 Feu ... 55
9.4 Transformations de l'azote dans le sol ... *56*
9.4.1 Le stockage de l'azote dans le sol ... 56
9.4.2 Ammonification et nitrification ... 57
9.5 Stocks et dynamique de l'azote dans la végétation ... *58*
Hyparrhenia diplandra ... ***59***
1. Systématique et évolution ... **59**
1.1 Les Graminées (Poacées) ... *59*
1.2 Les Andropogonées ... *60*
1.3 Le genre Hyparrhenia ... *61*
2. Principales caractéristiques d'*H. diplandra* ... **62**
2.1 Morphologie ... *63*
2.1.1 Appareil végétatif ... 63
2.1.2 Appareil reproducteur ... 63
*2.2 Ecologie d'*H. diplandra *à Lamto* ... *64*
2.2.1 Biomasse ... 64
2.2.2 Phénologie ... 65
2.2.3 Répartition spatiale ... 65
2.3 Génétique ... *66*

CHAPITRE III: Coexistence stable de systèmes exprimant des statuts de nitrification contrastés dans une savane tropicale humide ... 67

Introduction ... **68**
1. Choix des sites d'étude ... **69**
2. Caractérisation des sols et de la répartition des espèces végétales ... **70**
3. Caractérisation du potentiel de nitrification ... **70**
4. Stabilité des deux types de sites ... **71**
Stable coexistence of contrasted nitrification statuses in a wet tropical savanna ecosystem ... ***73***
Summary ... **74**
Introduction ... **75**
Materials and methods ... **77**
Site description ... 77
Soils studied ... 77
Physico-chemical characteristics of soils ... 78
Enzymatic potential of nitrification assays ... 78
Assay of assimilatory nitrate reductase activity (NRA) on fresh tissues of *Hyparrhenia diplandra* ... 79
Statistical analyses ... 80
Results ... **80**
Physico-chemical characteristics of soils ... 80
Potential of nitrification in the two sites ... 81
Nitrate reductase activity (NRA) of *Hyparrhenia diplandra* plantlets originating from the two sites ... 82
Discussion ... **84**
Potential of nitrification in the two sites ... 84
Relationships between soil potential of nitrification and nitrate reductase activity (NRA) of *Hyparrhenia diplandra* ... 85
Acknowledgements ... **88**

CHAPITRE IV: Contrôle racinaire de la nitrification à une échelle décimétrique par la Graminée africaine *Hyparrhenia diplandra*: une balance inhibition/stimulation ... 89

Introduction ... **90**
Root control of nitrification at decimetric scale by the African grass* Hyparrhenia diplandra*: an inhibition/stimulation balance ... ***92***
Abstract ... **93**
Introduction ... **93**

Materials and methods **95**
Site description 95
Soils studied and sampling procedures 95
Enzymatic potential of nitrification assays 96
Statistical analyses 98
Results 98
Comparison of the potential of nitrification under and between *H. diplandra* tussocks 98
Relationships between root densities and potential of nitrification along the 1-metre transects 98
Correlations between root densities and potential of nitrification at three depths 99
Discussion **101**
Influence of *H. diplandra* tussocks on the potential of nitrification at the plot scale 101
Relationships between *H. diplandra* tussocks location, root density and potential of nitrification at decimetric scale 102
Conclusion **104**
Acknowledgements **105**

CHAPITRE V: La nitrification: un handicap contourné par les écosystèmes savanes?..... 106

Introduction **107**
Nitrification: a handicap bypassed by savanna ecosystems? ***109***
Summary **110**
Introduction **110**
Methods **116**
Site location 116
Experimental plots 116
Soil samples 116
Nitrification potential measurements 116
Plant production indexes and species composition 116
Statistical analyses 117
Acknowledgements **117**

CHAPITRE VI: Source de variations de la production primaire entre sites de savanes à fort et faible potentiel de nitrification: différences d'accessibilité aux nutriments, ou différences de modes de croissance entre deux sous-populations d'herbacées?... 118

Introduction **119**
Source of variations in primary production between high- and low-nitrification savanna sites: different nutrient status or different growth behaviour between two grass subpopulations? ***121***
Summary **122**
Introduction **123**
Methods **125**
Site description 125
In situ measurements on grasses growing on low- and high-nitrification sites 126
Specific diversity of the grass layer and tuft density of *H. diplandra* *126*
Tuft size indices of *H. diplandra* *126*
Measurements on *H. diplandra* individuals from the two subpopulations grown in greenhouse 127
In situ measurements on *H. diplandra* after crossed plots manipulations 128
Statistical analyses 128
Results **129**
Plant characteristics of field growing *H. diplandra* *129*
Specific diversity of the grass layer and density of *H. diplandra* tufts in the two sites 129
Tuft characteristics of *H. diplandra* in the two sites 129
Characteristics of *H. diplandra* individuals growing in greenhouse 132
Characteristics of field growing *H. diplandra* individuals after crossed plots manipulations 133
Discussion **136**

Density and characteristics of plants naturally growing in high- and low-nitrification sites 136
Characteristics of *H. diplandra* individuals from the two subpopulations grown in greenhouse without neighbouring effect 137
Growth of *H. diplandra* individuals from the two subpopulations grown in mixture on bare soil plots 139
Conclusion 139
Acknowledgements 140

CHAPITRE VII: DISCUSSION GENERALE, PERSPECTIVES ET EVALUATION DE LEUR PERTINENCE ET/OU DE LEUR FAISABILITE 141

Discussion générale 142
1. Deux systèmes stables dans un même écosystème 143
2. Deux systèmes radicalement opposés 144
3. Dynamique des deux systèmes 145
4. Du micro-organisme à l'écosystème: nécessité d'une démarche intégratrice à plusieurs échelles 146

Perspectives et évaluation de leur faisabilité 150
1. Hétérogénéité spatiale et temporelle du processus de nitrification 150
1.1 Etude de la variabilité spatiale intra-site 150
1.2 Evaluation de la variabilité saisonnière de la nitrification dans chaque site 152
1.3 Influence des hétérogénéités environnementales apparentes de l'écosystème Lamto sur la variabilité spatiale de la nitrification 154
2. Etude du mécanisme d'inhibition de la nitrification 156
2.1 Vérification de l'inhibition par l'action d'extraits de sol ou de racines sur du sol nitrifiant ou des micro-organismes nitrifiants en milieu synthétique 157
2.2 Recherche du (des) médiateur(s) chimique(s) responsable(s) de l'inhibition 158
2.3 Détermination de(s) composante(s) fonctionnelle(s) de la communauté nitrifiante affectée(s) par l'inhibition 158
3. Pertes d'azote des deux systèmes à fort et faible taux de nitrification 159
4. Stabilité/compétition des deux types de systèmes: vers un système dynamique 161

DIFFUSION DU TRAVAIL 166
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 167
ANNEXES 190
Annexe 1: Planches photos 190
Annexe 2: Index des espèces végétales citées 197

CONTENTS

Pages

RESUME ... ix
ABSTRACT ... x
ACKNOWLEDGEMENTS ... xi
FIGURES AND TABLES ... xvi

GENERAL INTRODUCTION ... 1

CHAPTER I: General problematics, objectives and organisation of the thesis ... 4

General problematics ... 5
Objectives and organisation of the thesis ... 6

CHAPTER II: Bibliographic bases ... 11

Nitrification process ... 12
1. Nitrifying bacteria ... 12
1.1. Taxonomy and phylogeny ... 12
1.2. Physiology and metabolisms ... 15
1.3. Occurrence and natural diversity of nitrifying bacteria ... 16
2. Factors regulating nitrification ... 16
2.1 Substrates and products ... 16
2.2 Soil pH ... 17
2.3 Aeration and soil moisture ... 17
2.4 Temperature ... 18
2.5 Limitation by ammonium under vegetation ... 18
2.6 Limitation by nutrient deficiency ... 19
2.7 Traces elements, pesticides and specific inhibitors ... 19
3. Inhibition by allelopathic substances ... 20
4. Measurement methods of the soil nitrification ... 22
5. Nitrification process in the ecosystems ... 24
5.1 Occurrence of nitrification in the ecosystems ... 24
5.2 Role of nitrification in the ecosystems ... 25
Savannas ... 27
1. Definition and occurrence of savannas ... 27
2. African savannas ... 30
The Lamto ecosystem ... 32
1. Localisation and definition of the Lamto reserve ... 32
2. Climate ... 34
3. Rainfall and temperature along the studying period (1995-1998) ... 36
4. Fire ... 38
5. The soils ... 39
6. Soil fauna and flora ... 41
7. Vegetation ... 42
8. Spatial organisation of the ecosystem ... 44
9. The nitrogen cycle in Lamto ... 47
9.1 Environmental constraints and nitrogen conservation in Lamto ... 48
9.2 Inputs of nitrogen in the soil-plant system ... 50
9.2.1 Atmospheric depositions ... 50
9.2.2 Biological fixation of atmospheric dinitrogen ... 51
9.2.3 Grass cover leaching ... 53
9.3 Outputs of nitrogen from the soil-plant system ... 54
9.3.1 Lixiviation ... 54

9.3.2 Denitrification ... 54
9.3.3 Fire ... 55
9.4 Transformations of nitrogen in soil ... *56*
9.4.1 Nitrogen accumulation in soils ... 56
9.4.2 Ammonification and nitrification ... 57
9.5 Stocks and dynamics of nitrogen in the vegetation ... *58*
Hyparrhenia diplandra ... ***59***
1. Systematics and evolution ... **59**
1.1 The Graminae (Poaceae) ... *59*
1.2 The Andropogoneae ... *60*
1.3 The genus Hyparrhenia ... *61*
2. Principal characteristics of *H. diplandra* ... **62**
2.1 Morphology ... *63*
2.1.1 Vegetative system ... 63
2.1.2 Reproductive organs ... 63
2.2 Ecology of H. diplandra *in Lamto* ... *64*
2.2.1 Biomass ... 64
2.2.2 Phenology ... 65
2.2.3 Spatial repartition ... 65
2.3 Genetics ... *66*

CHAPTER III: Stable coexistence of contrasted nitrification statuses in a wet tropical savanna ecosystem ... **67**

Introduction ... **68**
1. Choice of study sites ... **69**
2. Characterisation of soils and plant species repartition ... **70**
3. Characterisation of nitrification potential ... **70**
4. Stability of the two types of sites ... **71**
Stable coexistence of contrasted nitrification statuses in a wet tropical savanna ecosystem ... ***73***
Summary ... **74**
Introduction ... **75**
Materials and methods ... **77**
Site description ... 77
Soils studied ... 77
Physico-chemical characteristics of soils ... 78
Enzymatic potential of nitrification assays ... 78
Assay of assimilatory nitrate reductase activity (NRA) on fresh tissues of *Hyparrhenia diplandra* ... 79
Statistical analyses ... 80
Results ... **80**
Physico-chemical characteristics of soils ... 80
Potential of nitrification in the two sites ... 81
Nitrate reductase activity (NRA) of *Hyparrhenia diplandra* plantlets originating from the two sites ... 82
Discussion ... **84**
Potential of nitrification in the two sites ... 84
Relationships between soil potential of nitrification and nitrate reductase activity (NRA) of *Hyparrhenia diplandra* ... 85
Acknowledgements ... **88**

CHAPTER IV: Root control of nitrification at decimetric scale by the African grass *Hyparrhenia diplandra*: an inhibition/stimulation balance ... **89**

Introduction ... **90**
Root control of nitrification at decimetric scale by the African grass* Hyparrhenia diplandra*: an inhibition/stimulation balance ... ***92***
Abstract ... **93**
Introduction ... **93**

Materials and methods **95**
Site description 95
Soils studied and sampling procedures 95
Enzymatic potential of nitrification assays 96
Statistical analyses 98
Results 98
Comparison of the potential of nitrification under and between *H. diplandra* tussocks 98
Relationships between root densities and potential of nitrification along the 1-metre transects 98
Correlations between root densities and potential of nitrification at three depths 99
Discussion **101**
Influence of *H. diplandra* tussocks on the potential of nitrification at the plot scale 101
Relationships between *H. diplandra* tussocks location, root density and potential of nitrification at decimetric scale 102
Conclusion **104**
Acknowledgements **105**

CHAPTER V: Nitrification: a handicap bypassed by savanna ecosystems? 106

Introduction **107**
Nitrification: a handicap bypassed by savanna ecosystems? ***109***
Summary **110**
Introduction **110**
Methods **116**
Site location 116
Experimental plots 116
Soil samples 116
Nitrification potential measurements 116
Plant production indexes and species composition 116
Statistical analyses 117
Acknowledgements **117**

CHAPTER VI: Source of variations in primary production between high- and low-nitrification savanna sites: different nutrient status or different growth behaviour between two grass subpopulations? 118

Introduction **119**
Source of variations in primary production between high- and low-nitrification savanna sites: different nutrient status or different growth behaviour between two grass subpopulations? ***121***
Summary **122**
Introduction **123**
Methods **125**
Site description 125
In situ measurements on grasses growing on low- and high-nitrification sites 126
Specific diversity of the grass layer and tuft density of *H. diplandra* 126
Tuft size indices of *H. diplandra* 126
Measurements on *H. diplandra* individuals from the two subpopulations grown in greenhouse 127
In situ measurements on *H. diplandra* after crossed plots manipulations 128
Statistical analyses 128
Results **129**
Plant characteristics of field growing *H. diplandra* 129
Specific diversity of the grass layer and density of *H. diplandra* tufts in the two sites 129
Tuft characteristics of *H. diplandra* in the two sites 129
Characteristics of *H. diplandra* individuals growing in greenhouse 132
Characteristics of field growing *H. diplandra* individuals after crossed plots manipulations 133
Discussion **136**

Density and characteristics of plants naturally growing in high- and low-nitrification sites ... 136
Characteristics of *H. diplandra* individuals from the two subpopulations grown in greenhouse without neighbouring effect ... 137
Growth of *H. diplandra* individuals from the two subpopulations grown in mixture on bare soil plots ... 139
Conclusion ... 139
Acknowledgements ... 140

CHAPTER VII: GENERAL DISCUSSION, PERSPECTIVES AND EVALUATION OF THEIR PERTINENCE AND/OR THEIR FEASIBILITY ... 141

General discussion ... 142
1. Two stable systems in a same ecosystem ... 143
2. Two radically opposite systems ... 144
3. Dynamics of the two systems ... 145
4. From microorganism to ecosystem: necessity of multi-scaled processes ... 146

Perspectives and evaluation of their feasibility ... 150
1. Spatial and temporal heterogeneity of the nitrification process ... 150
1.1 Intra-site study of spatial variability ... 150
1.2 Evaluation of seasonal variability of nitrification in each site ... 152
1.3 Influence of environmental heterogeneity of the Lamto ecosystem on the spatial variability of nitrification ... 154
2. Study of the inhibition mechanism of nitrification ... 156
2.1 Inhibition by soil or root extracts on nitrifying soil or nitrifying micro-organisms in synthetic media ... 157
2.2 Research on chemical substance(s) responsible for the inhibition ... 158
2.3 Determination of the functional component(s)in the nitrifying community affected by the inhibition ... 158
3. Nitrogen losses in the two low- and high-nitrification systems ... 159
4. Stability/competition of the two types of systems: through a dynamic system ... 161

WORK PUBLICATION ... 166
REFERENCES ... 167
ANNEXES ... 190
Annex 1: Photographs ... 190
Annex 2: Index of cited plant species ... 197

RESUME

La nitrification dans les sols est un processus particulièrement critique dans les systèmes pauvres en nutriments comme la savane de Lamto (Afrique de l'Ouest) où l'azote est considéré comme le facteur limitant principal de la production primaire. Les faciès dominés par la Graminée *Hyparrhenia diplandra* sont connus pour exprimer de faibles potentiels de nitrification et ainsi éviter les pertes de nitrate. Nous avons utilisé des sites à faible/fort potentiel de nitrification comme modèles afin d'étudier si la végétation pouvait inhiber la nitrification, et les possibles conséquences en termes de performance de l'écosystème et de cycle de nutriments.

Nous avons montré la coexistence de sites à forts et faibles potentiels de nitrification. La stabilité de ces deux systèmes a été abordée *via* l'activité nitrate réductase d'*H. diplandra*, montrant une différence stable de modalité de nutrition entre sous-populations des deux sites.

Nous avons démontré un contrôle direct *in situ* des sous-populations d'*H. diplandra* sur la nitrification par une balance inhibition/stimulation. Cette conclusion a été étayée par l'observation de corrélations négatives entre densité racinaire et nitrification en site non nitrifiant.

La production épigée et le ratio épigée-hypogée du couvert en site nitrifiant sont très inférieurs au site non nitrifiant. On a observé chez les *H. diplandra* du site nitrifiant des indices de taille et de croissance inférieurs en serre, *in situ* et décroissant quand elles sont mélangées *in situ* aux individus du site non nitrifiant, suggérant une moins bonne compétitivité peut-être due à une moins bonne accessibilité à la ressource lumière.

Ces résultats suggèrent une moins bonne accessibilité à l'azote du couvert en site nitrifiant et l'existence de sous-populations de Graminées exprimant diverses caractéristiques intrinsèques différentes. De futures recherches devront s'intéresser au mécanisme d'inhibition et à la stabilité et dynamique de ces deux systèmes contrastés.

ABSTRACT

Soil nitrification is an important process that partly controls nitrogen availability for plants and nitrogen conservation at ecosystem level. This process is particularly critical in nutrient-poor systems like the wet savanna of Lamto (West Africa) where nitrogen is considered as the major factor limiting primary production. Savanna facies dominated by the grass *Hyparrhenia diplandra* are known to exhibit low levels of nitrification and thus avoid nitrate losses. We used high/low nitrification sites as models to investigate whether vegetation could inhibit nitrification, and the possible consequences in terms of ecosystem performance and nutrient behaviour.

We showed that *H. diplandra* sites exhibiting high- and very low-nitrification potential coexist. Stability of the two systems was suggested through studies of *H. diplandra* nitrate reductase enzyme, showing different nutrition modalities of the two subpopulations (*i.e.* from the two sites).

Through transplantation experiments, we provided the first *in situ* evidence of the direct control of nitrification by *H. diplandra* at subpopulation level, with an inhibition/stimulation balance. This conclusion has been sustained by negative correlations between root density and nitrification in low nitrification site.

Aboveground primary production and shoot-root ratio were much lower in high than in low nitrification sites. Size, growth and functional indices of *H. diplandra* from high-nitrification site were lower in the field and greenhouse compared to *H. diplandra* from low-nitrification-site. When mixed, they presented decreasing size indices, suggesting a lower competitive ability *via* lower light resource access.

These results suggested lower nitrogen availability in the high nitrification site and existence of distinct grass subpopulations exhibiting intrinsic different structural/functional characteristics. Further studies should deal with inhibition mechanisms, and stability and dynamics of these two contrasted systems.

REMERCIEMENTS

«Cependant les astronomes constatent avec une joie toute intime la présence dans la lune d'un habitant non encore décrit par les auteurs et auquel ils s'accordent à donner le nom euphonique de* gigasélénanthropocynoïde*. Aussi, le lundi suivant, l'astronome Scarmat (Jean), parrain du* gigasélénanthropocynoïde*, s'empressa-t-il de faire devant l'Académie attentive une communication sensationnelle commençant par ces mots: «Permettez à un modeste savant…» et se terminant par: «c'est, j'ose le dire, la plus belle découverte des temps passés et présents!». Après quoi les académiciens n'ayant plus rien à se dire, s'érigèrent en comité secret, ce qui leur permit d'expulser le public et de s'éclipser ensuite eux-mêmes à l'anglaise.»

Christophe, *in* «*L'idée fixe du savant Cosinus*», Librairie Armand Collin, 1899

L'humain possède beaucoup de points communs avec un écosystème; de fait il en est partie intégrante, et une image déformée par ce que l'on peut regrouper sous le sous-ensemble flou dit des "relations sensibles avec ses semblables". Impossible à modéliser, comportement chaotique, amélioration des performances, mais aussi pollution de l'attention et inhibition de l'intention. Il interagit donc de façon forte sur ce travail à longue haleine qu'est une thèse. Les remerciements constituent une appréhension simplifiée et biaisée (les aspects négatifs en étant souvent absents) de cette pierre d'achoppement entre les intérêts personnels et la volonté collective (pas forcément bien définie, ni appliquée). Ils deviennent alors indispensables, offrant même une liberté qui ne se peut retrouver ailleurs, dans le corps de la thèse. *So be it*…

Soient donc ici remerciés:

At first, les personnes sans qui rien de tout ceci n'aurait été possible: **les miens**. D'être soutenu est essentiel, quand la permanence s'ajoute cela devient un facteur de réussite significatif ($p=10^{-66}$). Merci maman, Delphine, mamie, papi et Yvonne.

Tous les membres de mon jury pour avoir lu mon travail et assisté à ma soutenance: **Luc Abbadie**, **Philip Ineson** for crossing the channel, **Jean-Claude Lefeuvre**, **Robert Lensi**, **André Mariotti** & **Franck Warembourg**.

André Mariotti, pour m'avoir accueilli dans son DEA "Fonctionnement physique, chimique et biologique de la biosphère continentale" à Paris VI; un super DEA, une chouette ambiance, une bourse à la clé, à un moment de transition pas forcément facile pour moi…

… and X-tra thanxx to **Nick** and **Natasha**; you made me stronger in these hard days.

Jean-Claude Menaut pour m'avoir accueilli dans l'équipe; et pour des échanges impromptus, passionnés et motivants.

Luc Abbadie, pour m'avoir proposé le stage et la thèse, pour Lamto, pour une certaine philosophie de la science trop peu usitée, pour des discussions généralistes et généralisables, pour m'avoir supporté dans mes pires moments de doute, pour le terrain, dans les ondées ivoiriennes, la moiteur nocturne, la boue et les chants wagnériens; et pour tout ce travail qui arrive à sa fin.

Je suis également reconnaissant envers les autorités ivoiriennes, L'Université Nationale et particulièrement **D. Aïdara** (Président de l'Université Abobo-Adjamé), et le Ministère de la Recherche de Côte d'Ivoire pour m'avoir autorisé à réaliser mon travail de terrain à Lamto.

Robert Lensi, pour m'avoir accueilli à Lyon sans ambages, pour avoir autant participé à l'élaboration de ce travail; pour ses "si je me faisais l'avocat du diable", phrase enchanteresse masquant un futur et total bouleversement du chapitre de l'article que vous êtes en train de rédiger; pour sa disponibilité au travail malgré sa fitness négative (gènes espagnols ET italiens…); enfin, encore, juste pour Lyon, c'était tellement bien…

Nadia Salin, qui a supporté une part importante (non…) de travail, rien que pour me faire plaisir (parce que bon hein!, si elle veut pas, elle veut pas). Mais ça encore, ce n'est rien, comparé à l'amitié et au bonheur que j'ai eu de l'avoir à mes côtés durant toute cette thèse… Enfin, pour beaucoup de choses, pour le mousseux et la vipérine, pendant les journées à St Chef, les restos, les problèmes de serre, les bonnes blagues, et d'être resté aussi tard pour moi le soir, provoquant des crises de jalousie aiguës chez d'autres personnes…

Valérie Degrange pour toutes les discussions au coin d'une table, avec toutes ces histoires de touffes d'herbes et de trucs et de machins bizarres de savanes. Et la rédaction d'articles. Et **François Gourbière** pour de très intéressantes discussions et aides statistiques.

Xavier Le Roux, pour l'article phéno, et une vision saine de la rédaction d'articles: "Pour être publiés, il faut savoir élaguer!"… (Bouhouhouhou mes résultats!!!)

Jacques Durand, pour la N.R., pour les articles, son aide sur *H. diplandra* et sa gentillesse.

LAMTO: Roger Vuattoux; pour son accueil à Lamto, à Abidjan, les facilités, les discussions et les rires devant RTI et "Faut pas fâcher!!"! Ah! nyamooo…

Kouassi Kouassi Etienne, **Kouamé N'Guessan François**, **Lazarre**, **Germain**, **Konan Marcel** & **Gérard** pour le travail et tout le reste à Lamto.

Et particulièrement **Savadogo Sadare Prosper** pour son amitié, tout simplement.

A la Géophysique mes pensées vont à **Jean Louis Tireford**, trop tôt parti. Et à **Thierry Galiotto** pour le Burkina et les expériences gastronomiques douloureuses!

Je ne remercie pas ces idiots de ✗✶ ⚚☠!!! de **buffles** qui rôdent autour de la station la nuit, n'ayant qu'un seul but: piétiner les nouvelles parcelles des gentils scientifiques, juste comme ça, pour se croire coquins et farceurs…

LYON: Ce labo est devenu, en quelque sorte, mien. Et en même temps que de découvrir la ville, j'ai rencontré des gens supers. Alors de grands mercis à: **Ze Salin Connexion**, pour tous ces moments extra, toutes ces bières et ces ballades lyonnaises. **Jacqueline Kedves & Lucille** pour m'avoir hébergé. **Lionel**, pour de Größe plaisanteries, le foot (surtout France-Croatie, 2-1 et… une soirée particulière), l'hébergement, les jeux (innocents) avec Léïa, les sandwiches, la blouse de TP marquée, l'OM, etc, etc… **Jérôme**, pour une amitié indéfectible, de super discussions et de bonnes gueules de bois. **Véro**, pour le cinoche, les bouffes, les discussions, pour l'été 97, pour la muzik, les mails et… sa grande amitié. **Jeff** pour être un nain aussi cool, le plus cool des nains que je connaisse en fait, même s'il est aussi fainéant qu'un hobbit. Et qu'il n'a pas les pieds aussi poilus. **Franck P.**, pour de Größe plaisanteries (voir Lionel), pour le congrès à Montpellier et puis d'être un mec aussi gentil. En plus d'être un surfeur glisseur beach-boy d'enfer. Y'en a qui ont vraiment tout! **Franck B.**, pour de Größe plaisanteries (voir…), etc, etc… Même si des personnes qui skient aussi bien sont très énervantes pour les débutants… **Christophe**, pêke c'est un chtiou, l'ôt' eud' nordiste. Et puis je remercie aussi **Colette**, **JC Roggy**, **Stéphane**, **Sylvie**, **Jean-Chri**, **Laurent**, **Hélène**, **Gladys**, **Père Pottier**, **Karine**, **Géraldine**, **Sophie**, **Renaud**, **Nadia**, **Béatrice** et les autres pour plein de petits et grands moments.

ITALIE: il faut que je me fasse une raison, je ne serais jamais comme Sébastien… Donc, je ne connais qu'*une seule* italienne, mais la plus délicieusement fofolle: **Chiara**, et plein de super moments à Lamto, à Paris, à Firenze e Toscana… *Viva li possibilistici!*

ORSAY: Mercis à **Monique Akimoff**, pour deux supers années. **Olivier**, **Pascale**, **Vince**, **Yoyo**, **FX**, **Matthias**, **Ronan**, **Frédo**, **Loïc**, **Taï** et tous les Orséens… *Ye were Here folk*s!!!

PARIS: Bon là, c'est du sérieux. C'est dans cette ville tentaculaire que j'ai passé le plus de temps pendant cette thèse (labo compris), et que les gens auxquels je dois beaucoup (sinon plus) sont regroupés comme des fourmis autours d'une termitière éventrée. Alors je remercie:

(ENS): Sébastien & **Karine**, mes deux anges-gardiens, toujours là à me pousser en avant depuis le début (4 ans) en prenant garde que je ne glisse (dès fois, Seb est un peu "brutal"), en m'aidant pour tout et le reste; comment résumer autant de choses, de voyages (Lamto, Burkina Faso, Montpellier, Florence), de bruits, de fureur et d'odeurs (Seb?). Impossible! Alors je dis: "Merci! Petit à petit, l'oiseau fait son nid, mais grâce aux amis, il construit même la nuit" (voui bon hein, on fait ce qu'on peut!). Merci à Seb pour Lamto et toutes ces soirées, l'accueil au labo, l'engonçage de 4x4 au fond des thalwegs, les cris, les baignades interdites, la mobylette au Burkina, les plaquages de judo, la bouffe ivoirienne, les stats, le cinéma, l'entourage italien… Merci à Karine pour toutes ces discussions rigolotes, d'être une bretonne bre-tonifiante, de savoir choisir les vêtements pour tous ces pauvres hommes bêtes devant un magasin pourtant *ad hoc*, pour ses succulentes crêpes, pour sa vision naturelle et saine des choses. **Julie**, pour tout ce travail, pour le ski, pour les bagarres d'eau, pour toute une année (parfois difficile) passée ensemble… **Yann**, pour plein d'éclats de rires gras et salutaires. **Niko**, pour des discussions acharnées mais super intéressantes. **Solo**, pour Lamto et le basket. **Andréa**, éh! qué bello italiano!! Et que je remercie d'avoir écrit un aussi magnifique chapitre "remerciements" dans sa thèse; la thèse est pas mal, sinon. Mais aussi, dans le désordre le plus total (qui a dit "comme mon bureau"?): **Kamel**, **Saïma**, **Florence+Florence**, **Gérard-bip-bip-speeder**, **Claire+Claire**, **Jacques+Jacques**, **Ginette**, **Audrey**, **Michel Lepage**, **Danièle**, **Florence**, **Xavier**, **Tatiana**, **Patricia**, **Hélène** (ouh! la vache est morte!), **Elisabeth**, **Tanguy**, **Shigeo**, **David**, **Françoise**, **Philippe**, **Claude**, **Marc**, **Andy**, **Virginie**-rongeurs + **Virginie**-racines, **Paul** pour "the Ultimate killing jokes", **Hassan**, et enfin l'équipe de foot de Jussieu pour s'être laissé aussi joyeusement étriller pendant autant de matchs!

1-(ENS): de grands mercis à: **la famille PALLUD** (montagnards), **RV** (bruitiste), **Xy'** (brailleur), **Tony** (bafouilleur), '**Chtoon** (picard), **Céline Rigal** (West Girl), **Jean-Louis** & **Danièle** (cartonneurs), **Ivan** (aviateur trasheur), **David** & **Thomas** (Slotistes), **Lara** (touilleuse), **Cédric** (interne), **Anne-Lise** (rôliste), **Christian** (motard), **JP** (croquignolet), **Yann** (breton) et à ceux que j'oublie…

SPONSORING: Je tiens à remercier comme agents de soutien pratique et moral le Grand Hôtel, Flag et Bracodi, la RTI, le PSG, New Model Army, Radiohead, The Cult, Marlboro, Casa Café, Duke Nukem 3D, Diablo, la SNCF dont je pense avoir fait accroître d'un quart le chiffre d'affaire entre 1995 et 1999, Chez Michel, Da Squad, Slot, Tolkien, Studio Bleu, AD&D, Heineken, Shark Micro, les 4x4 Toyota, Nikon, Marshall Amps., ESP guitars, Vantage, Zoom effects, Slayer, Marilyn Manson, Peter Jackson, Sam Raimi, and at last my Masters in Life: *The Monty Python*.

Le financement principal de cette thèse a été assuré par le programme Savanes A Long Terme (**SALT**) du comité français Géosphère-Biosphère, le **Programme National Sol et Erosion**, et enfin la bonne volonté familiale.

And at last, a word to my **Mountain Muse** & Mistress in Furs, the most beautiful and gentle and sweet of all creatures on this planet earth (and I mean it):

Ce silence pénétrant
des voyages solitaires
en deuxième classe de province
sur les rails des souvenirs
futurs et le jour nous prenait
à nouer les lacets
de nos tendresses
la route il pleuvra
je marcherai longtemps
avant de reconnaître
à l'herbe humide
la trace de ton pas…

Roger Wallet, j'ai rien dit, 1973

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Introduction générale

Figure 1: Compartiments abordés à l'interface sol-plante-écosystème dans ce travail ..... page **3**

Chapitre I: Problématique générale, objectifs et plan de la thèse

Figure I.1: Niveaux d'observations traités dans cette étude ..... page **8**

Chapitre II: Bases bibliographiques

Le processus de nitrification

Tableau II.1: La famille des *Nitrobacteriaceae* ..... page **13**
Figure II.1: Arbre phylogénétique des Protéobactéries ..... page **14**
Tableau II.2: Types d'écosystèmes classés suivant des mesures de potentiels de nitrification *in situ* ..... page **24**

Les savanes

Figure II.2: Définition d'une savane suivant différentes proportions variables d'herbes et de ligneux ..... page **27**
Figure II.3: Distribution mondiale des savanes ..... page **28**
Figure II.4: Unités phytochorologiques de l'Afrique tropicale ..... page **31**

Présentation du milieu

Figure II.5: Localisation de la réserve de Lamto et carte forêt-savane ..... page **32**
Figure II.6: Diagramme ombrothermique de Lamto entre 1962 et 1990 ..... page **35**
Figure II.7: Précipitations totales mensuelles à Lamto pour la période d'étude 1995-1998 ..... page **37**
Figure II.8: Températures moyennes mensuelles à Lamto pour la période d'étude 1995-1998 ..... page **38**
Figure II.9: Caténa type présentant les principaux faciès de savane présents à Lamto ..... page **42**
Figure II.10: Sources d'hétérogénéité dans la savane de Lamto ..... page **44**
Figure II.11: Exemple de répartition spatiale des touffes de Graminées sur un mètre carré en site A ..... page **46**
Figure II.12: Schématisation du cycle de l'azote à Lamto ..... page **47**
Figure II.13: Mécanismes de conservation de l'azote à Lamto ..... page **49**

Hyparrhenia diplandra

Figure II.14: La tribu des Andropogoninées ..... page **61**
Figure II.15: Exemple de morphologie chez les *Hyparrhenia* (*H. rufa*) ..... page **62**

Chapitre III

Figure III.1: Eléments abordés dans ce chapitre III ..... page **68**
Figure III.2: Localisation des deux sites d'étude (sites A et B) dans la station de Lamto ..... page **69**
Tableau III.1: Caractéristiques physico-chimiques des sols des deux sites d'étude ..... page **81**
Figure III.3: Comparaison des activités nitrifiantes moyennes des deux sites ..... page **82**
Figure III.4: Comparaison des activités *in vivo* de l'enzyme nitrate réductase des feuilles des deux sous-populations d'*H. diplandra* ..... page **83**
Tableau III.2: Analyses statistiques de l'effet des sous-populations d'*H. diplandra* et de l'âge des plantes sur l'activité enzymatique nitrate réductase ..... page **84**

Chapitre IV

Figure IV.1: Echelles des interactions *H. diplandra*/nitrification étudiées dans ce chapitre..... page **90**
Tableau IV.1: Caractéristiques du sol des deux sites d'étude à différentes profondeurs..... page **96**
Figure IV.2: Transects dans les deux sites d'étude à la première profondeur. Relations entre l'emplacement des touffes, la densité racinaire et le potentiel de nitrification ..... page **99**
Figure IV.3: Relations moyennes entre densité racinaire des Graminées et potentiel de nitrification à trois profondeurs (0-10, 10-20 et 20-30 cm) des sols des deux sites..... page **100**
Tableau IV.2: Analyses statistiques des effets site, profondeur et densités racinaires sur le potentiel de nitrification..... page **101**

Chapitre V

Figure V.1: Interactions *H. diplandra*/nitrification/production primaire étudiées dans ce chapitre..... page **107**
Tableau V.1: Potentiels de nitrification des parcelles transplantées et des parcelles témoins..... page **112**
Figure V.2: Relation entre potentiel de nitrification sous touffe à *H. diplandra* et le diamètre des touffes dans les deux sites d'étude..... page **113**
Tableau V.2: Biomasses aériennes et souterraines, couverture basale totale et composition des espèces de Graminées dans les deux sites d'étude..... page **114**

Chapitre VI

Figure VI.1: Indices phénotypiques et dynamiques d'*H. diplandra* et d'autres espèces de Graminées des deux types de systèmes étudiés dans ce chapitre..... page **119**
Tableau VI.1: Diversité spécifique et densités en *H. diplandra* des deux sites d'étude..... page **129**
Tableau VI.2: Indices de taille des touffes d'*H. diplandra* des deux sites poussant *in situ*..... page **130**
Figure VI.2: Fréquences de distribution des hauteurs et diamètres d'*H. diplandra* des deux sites poussant *in situ*..... page **131**
Figure VI.3: Distances maximum moyennes entre feuilles et axe principal d'*H. diplandra* des deux sites poussant *in situ*..... page **132**
Tableau VI.3: Caractéristiques phénotypiques d'*H. diplandra* des deux sites poussées en serre..... page **133**
Figure VI.4: Suivi temporel des hauteurs, diamètres et nombre de feuilles d'individus *H. diplandra* des deux sites plantés en mixité en site faiblement nitrifiant (A)..... page **134**
Figure VI.5: Suivi temporel des hauteurs, diamètres et nombre de feuilles d'individus *H. diplandra* des deux sites plantés en mixité en site fortement nitrifiant (B)..... page **135**

Chapitre VII: Discussion générale et perspectives

Discussion générale

Figure VII.1: Les deux systèmes possibles du cycle de l'azote dans les sols de Lamto..... page **142**
Figure VII.2: L'écosystème Lamto vu *via* le processus de nitrification. Exemples d'emboîtements d'échelles et des processus associés..... page **149**

Perspectives et évaluation de leur faisabilité

Figure VII.3: Potentiel de nitrification le long de transects en site nitrifiant (B)..... page **151**
Figure VII.4: Variations saisonnières du potentiel de nitrification dans les deux sites..... page **153**
Figure VII.5: Potentiel de nitrification dans les deux sites 15 jours avant et après le passage du feu..... page **154**
Figure VII.6: Potentiel de nitrification dans les deux sites sous différentes espèces de ligneux..... page **155**
Figure VII.7: Potentiel de nitrification dans les deux sites sous buttes termitiques épigées..... page **156**
Figure VII.8: Potentiel de nitrification suivant différentes proportions de sols provenant des deux sites..... page **157**
Figure VII.9: Scénarios d'évolution des deux systèmes (faible et fort taux de nitrification) dans l'écosystème Lamto..... page **162**

Annexes

Photo 1: Physionomie typique des savanes de Lamto..... page **190**
Photo 2: Strate des palmiers rôniers..... page **191**
Photo 3: Surface au sol des touffes pérennes après élimination de la biomasse épigée..... page **191**
Photo 4: Touffes d'*Hyparrhenia diplandra* (site A)..... page **192**

Photo 5: Touffe d'*Hyparrhenia diplandra* avec son chevelu radiculaire ..... page **192**
Photo 6: Comptage de feuilles d'une touffe d'*Hyparrhenia diplandra* ..... page **193**
Photo 7: Mosaïque alternant sol nu et touffes d'*Hyparrhenia diplandra* ..... page **193**
Photo 8: Prélèvements décimétriques aux profondeurs 0-10, 10-20 et 20-30 cm ..... page **194**
Photo 9: Parcelle d'individus *H. diplandra* entourée d'une bordure de sol nu ..... page **194**
Photo 10: Densité et tailles des *H. diplandra* sur un m² dans le site faiblement nitrifiant (site A) ..... page **195**
Photo 11: Densité et tailles des *H. diplandra* sur un m² dans le site fortement nitrifiant (site B) ..... page **195**
Photo 12: Parcelle laissée artificiellement nue (couverture végétale éliminée régulièrement) ..... page **196**

«Nitrogen is critical for life on earth: it is an integral component of all amino acids, the basic constituents of protein. Although elemental nitrogen is abundant – the Earth's atmosphere is 79 percent nitrogen – the availability of nitrogen often limits the productivity of plant communities, whether natural vegetation or agricultural crops.»

G. P. Robertson, 1986

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Nous nous sommes attachés dans cette thèse à associer de manière concrète deux approches de l'écologie: **fonctionnement global de l'écosystème** (dont un des principaux descripteurs est la dynamique de la végétation) et **étude des mécanismes et des interactions à la base des flux de matière et d'énergie**. Les micro-organismes sont, par l'intermédiaire des transformations qu'ils génèrent, des acteurs majeurs de ces flux. Les communautés fonctionnelles microbiennes (*via* leurs équilibres et leurs activités) ainsi que le couvert végétal (*via* son action sur son environnement) ont été associés selon une approche dynamique.

La nitrification dans les sols, qui constitue le principal processus étudié dans ce travail, est un déterminant majeur de la dynamique végétale, puisque c'est de l'activité nitrifiante dont dépend l'équilibre entre les deux formes d'azote minéral principalement utilisées dans la nutrition des plantes. C'est également de cette activité nitrifiante que dépendent en grande partie les potentialités de perte d'azote, ressource souvent limitante dans les écosystèmes naturels.

Nous avons cherché à axer notre recherche en prenant en compte **(i) le sol**, *via* sa composante microbienne qui conditionne les cycles de nutriments et *via* ses caractéristiques physico-chimiques, **(ii) le couvert végétal**, *via* ses caractéristiques de production et de phénologie, **(iii) l'interface sol-plante** qu'est la rhizosphère et **(iv) le fonctionnement global** de l'écosystème en terme de production totale, de diversité et d'équilibre des ressources (Figure 1). Cette recherche, impliquant la confrontation de compétences diverses, a donc nécessité de conduire des études pluridisciplinaires. De ce fait, cette thèse est le résultat d'une collaboration avancée et égale entre trois pôles: tout d'abord, **le Laboratoire d'Ecologie** (UMR 7625 UPMC ENS CNRS) **de l'Université Paris VI** avec principalement l'équipe "Fonctionnement et évolution des systèmes écologiques"; ensuite **le Laboratoire d'Ecologie**

Microbienne (UMR CNRS 5557) **de l'Université Claude Bernard Lyon I** avec principalement l'équipe "Communautés et Activités Microbiennes"; et enfin **la Station d'Ecologie de Lamto**, dépendant de l'Université Nationale et du Ministère de la Recherche de Côte d'Ivoire.

Compartimentation du travail

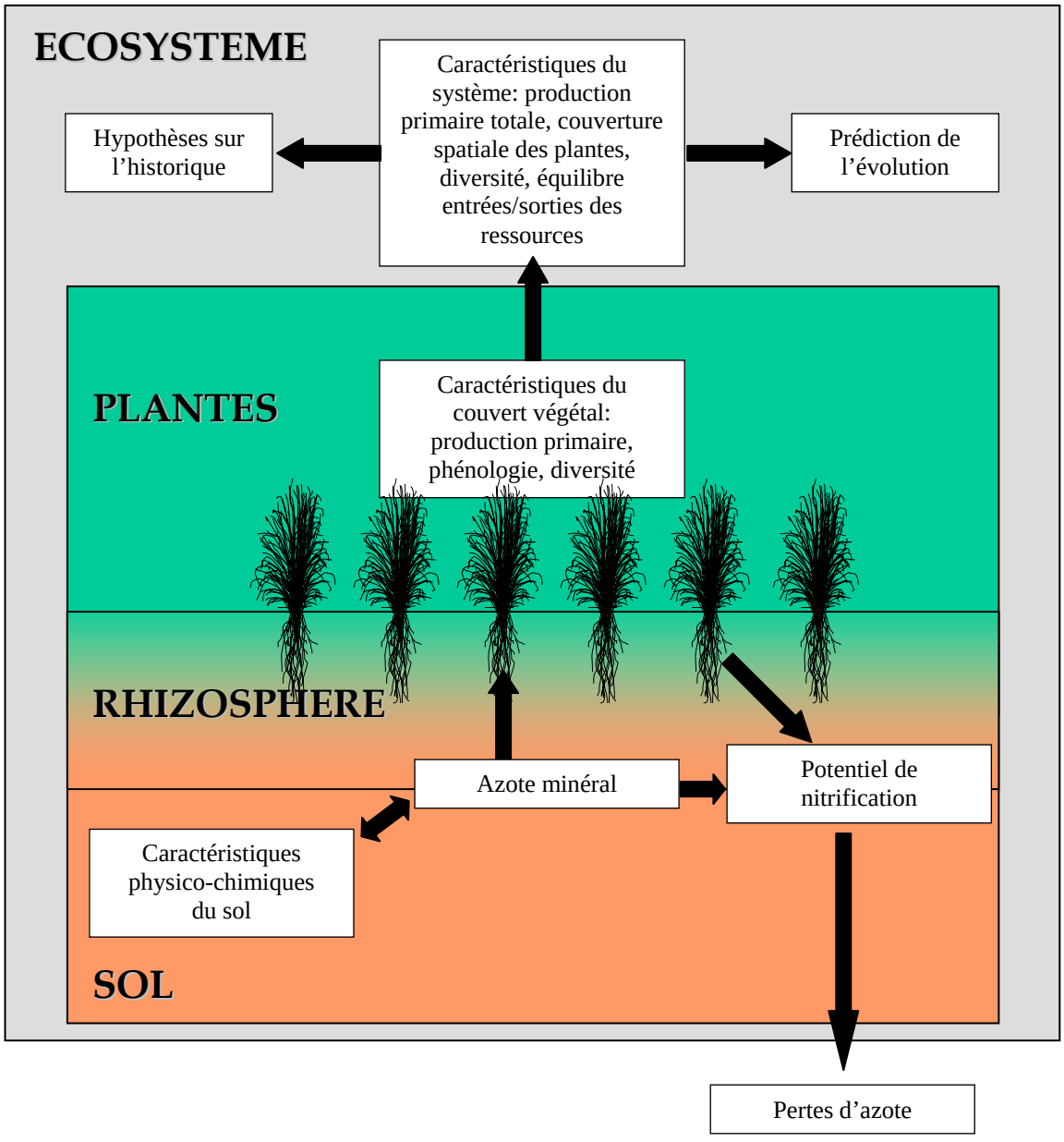


Figure 1: Compartiments abordés à l'interface sol-plante-écosystème dans ce travail.

«Cette savane de Lamto présente donc un intérêt particulier par suite de sa situation de lisière, de frontière entre deux mondes très différents. Comme à toute frontière, on est aux avant-postes de luttes éventuelles; comme à toute frontière, on est aussi dans une marge où les influences s'interpénètrent. De quel type de frontière s'agit-il ici, une frontière en mouvement ou une frontière stabilisée, une frontière perméable ou une frontière infranchissable?»

Y. Monnier, 1968

CHAPITRE I: PROBLEMATIQUE GENERALE

DEFINITION DES OBJECTIFS

PLAN DE LA THESE

PROBLEMATIQUE GENERALE

DEFINITION DES OBJECTIFS

PLAN DE LA THESE

PROBLEMATIQUE GENERALE

Ce travail s'articule autour des mots-clés suivants: **interactions plantes - micro-organismes**, **fonctionnement de l'écosystème** (modèle étudié: savane tropicale), **nitrification**. Ces mots-clés s'organisent en problématique et débouchent sur la formalisation des objectifs de cette thèse de la manière suivante:

La nitrification est définie comme l'oxydation microbienne d'ammonium (NH_4^+) en nitrate (NO_3^-) (des informations relatives aux micro-organismes impliqués, au rôle de ce processus dans les écosystèmes, à sa régulation par les paramètres biotiques et abiotiques et aux méthodologies existantes pour le mesurer seront données dans le chapitre II "Bases bibliographiques"). Dans la savane de Lamto, écosystème "modèle" de notre étude, l'intensité de ce processus clé du cycle de l'azote s'est toujours avéré très faible, même si une certaine hétérogénéité apparaît entre les différents faciès présents (Pochon & Bacvarov, 1973; Abbadie & Lensi, 1990; Lensi *et al.*, 1992), par exemple, un potentiel de nitrification significatif a été observé dans les sols de forêt (Lensi *et al.*, 1992). Cette quasi-absence de nitrification à Lamto était cohérente avec l'hypothèse souvent émise (Huber *et al.*, 1977; Jordan *et al.*, 1979; Vitousek *et al.*, 1979; Keeney, 1986; Robertson, 1989) selon laquelle l'absence de nitrification dans ces écosystèmes fortement limités en nutriments pouvait permettre une gestion plus rationnelle de l'azote minéral en limitant les pertes éventuelles par dénitrification

et lixiviation. Dans cet esprit, la nitrification pourrait être considérée comme un handicap pour l'accessibilité de l'azote et donc la production de l'écosystème.

Pour expliquer l'absence de nitrification, la faible compétitivité pour le substrat ammonium des bactéries nitrifiantes face au couvert herbacé peut sembler suffisante. Cependant, le faible niveau général des mesures (y compris en dehors des touffes de Graminées) et leur hétérogénéité suivant les différents couverts herbacés examinés (nitrification sous faciès à *Loudetia simplex* (Arundinellées) supérieure au faciès *Hyparrhenia diplandra* (Andropogonées), *in* Lensi *et al.*, 1992) ont suggéré une autre hypothèse. De nombreux auteurs dont Munro (1966), Meiklejohn (1962, 1968), Rice & Pancholy (1973), ont observé un effet négatif de plusieurs Graminées et, en particulier, des Andropogonées du genre *Hyparrhenia*, sur les nitrifiants. Ces auteurs ont suggéré d'attribuer cet effet à l'exsudation racinaire de composés allélopathiques, une inhibition de la nitrification ayant été obtenue lors d'expériences de lavis ou de broyages racinaires. Cependant, cette interaction (et *a fortiori* les mécanismes impliqués) n'a jamais pu être directement démontrée et est resté jusqu'à présent sujet à controverses.

DEFINITION DES OBJECTIFS ET PLAN DE LA THESE

En 1992, une campagne d'étude portant sur les émissions gazeuses d'oxyde d'azote a été réalisée dans plusieurs savanes d'Afrique de l'Ouest, dont Lamto (Le Roux *et al.*, 1995). A cette occasion, on a observé dans un site de savane à *Hyparrhenia diplandra*, Graminée pérenne dominante (80% du couvert végétal) dans le faciès le plus représenté de la savane de Lamto, un potentiel de nitrification étonnement supérieur à toutes les mesures précédentes. Les caractéristiques physico-chimiques principales du sol et la couverture végétale de ce site ne semblaient pourtant pas différer des autres sites de mesure.

Cette découverte a alimenté la controverse concernant le rôle des Graminées sur le contrôle de la nitrification à Lamto, et de façon plus générale dans les savanes humides. Si des sites nitrifiants possédaient un couvert végétal identique aux sites non nitrifiants, alors les Graminées pourraient, soit n'avoir aucun contrôle sur la nitrification, soit exprimer ou non ce contrôle suivant des critères touchant aux peuplements herbacés en termes de sous-populations (différences situées au niveau intra-spécifique).

Ce site à forte nitrification (plus de dix fois supérieure à la moyenne de l'activité rencontrée classiquement en faciès de savane à Lamto) a semblé dès lors constituer un outil d'étude précieux, pour appliquer une démarche comparative à l'étude des interactions entre le couvert végétal et le cycle de l'azote dans les sols, et à l'étude du rôle de ces interactions au sein du fonctionnement de l'écosystème en termes de performance et d'accessibilité aux nutriments.

Ce travail de thèse est issu de cette démarche et s'articule autours de plusieurs axes de recherche détaillés dans la suite de ce paragraphe. Bien sûr, il a pour ambition de contribuer à une meilleure compréhension du fonctionnement de l'écosystème savane, mais il vise également, et surtout, à enrichir nos connaissances sur les interactions plantes/micro-organismes. Pour ce second objectif, l'écosystème savane est relégué au rôle de modèle qui, par ses caractéristiques d'organisation, offre des situations extrêmes, idéales pour analyser ces interactions sur des bases d'approches comparatives et d'approches en gradients.

Les objectifs essentiels de ce travail ont donc été: (**1**) **de caractériser deux sites "modèles"** (l'un présumé capable d'exprimer une activité nitrifiante (**site B**) et l'autre présumé incapable de cette expression (**site A**)) vis-à-vis de leur statut nitrifiant et (**2**) **d'étudier**, à l'aide de cette situation comparative, **le déterminisme de la nitrification dans cet écosystème et, en particulier, le rôle du couvert végétal**.

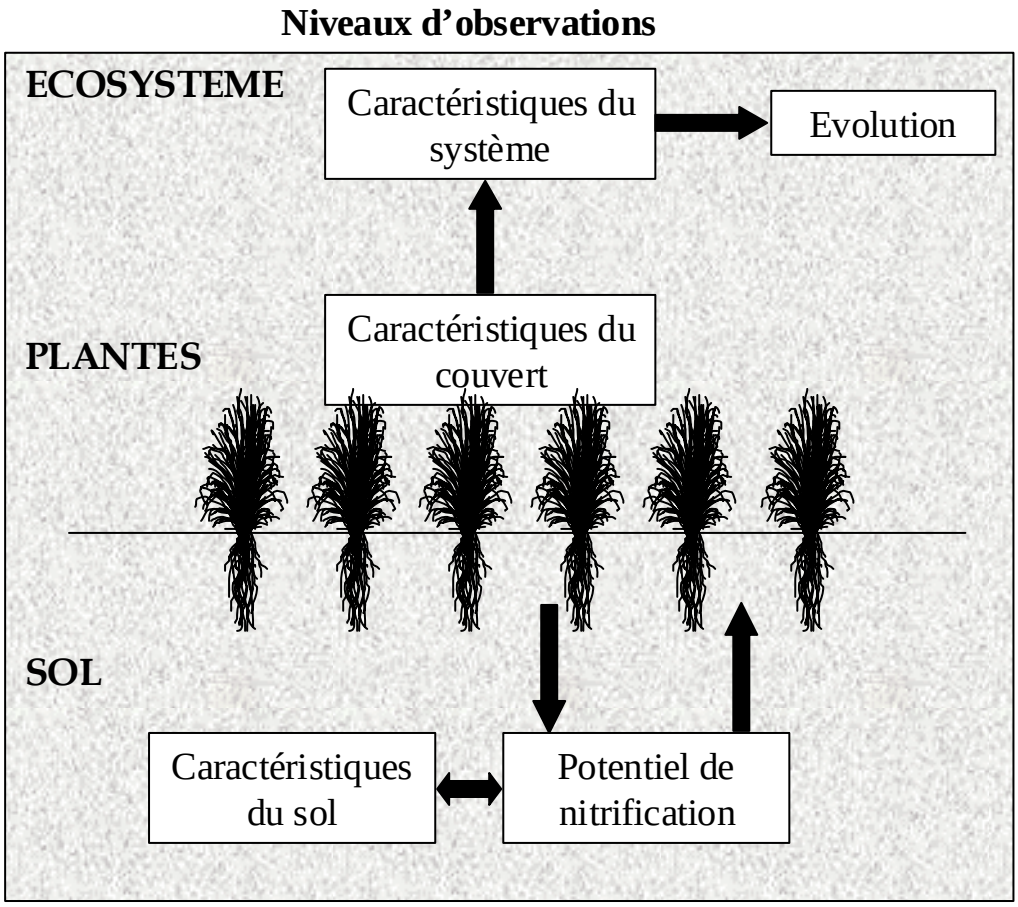


Figure I.1: Niveaux d'observations traités dans cette étude.

Trois niveaux d'observation ont été traités (Figure I.1): le sol (déterminisme du potentiel de nitrification), le couvert végétal (influence des végétaux sur la nitrification) et le fonctionnement de l'écosystème (influence de la nitrification sur la production primaire).

Après avoir fourni des informations concernant les mots-clés autour desquels s'articule ce mémoire (**Chapitre II: Bases bibliographiques**), la partie expérimentale de ce travail s'organisera donc de la manière suivante:

Chapitre III: Coexistence stable de systèmes exprimant des statuts de nitrification contrastés dans une savane tropicale humide

La première partie de ce chapitre traitera du choix, puis de la caractérisation des deux sites "modèles" dans notre démarche comparative du point de vue de la couverture végétale, des principales caractéristiques physico-chimiques du sol et du potentiel de nitrification.

La seconde partie portera sur l'évaluation de la stabilité dans le temps du statut nitrifiant des deux types de sites. En effet, si les différences observées entre les deux sites s'avéraient transitoires, l'ensemble de l'étude serait fragilisé. Pour cela, nous utiliserons comme indicateur le degré d'adaptation d'*H. diplandra* aux deux modes de nutrition azotée (présence ou absence de nitrate) associée aux deux cycles de l'azote du sol (présence ou absence de nitrification).

Chapitre IV: Contrôle racinaire de la nitrification à une échelle décimétrique par la Graminée africaine *Hyparrhenia diplandra*: une balance inhibition/stimulation

Ce chapitre portera sur le contrôle éventuel de l'espèce dominante *H. diplandra* sur le potentiel de nitrification, ***via* une approche indirecte** fondée sur des corrélations. Nous nous intéresserons donc aux corrélations entre le potentiel de nitrification et: (i) la présence ou l'absence des touffes d'*H. diplandra*; (ii) la densité racinaire à deux échelles d'observation: le long d'un transect décimétrique intégrant la présence des touffes, et en observant des prélèvements aléatoires de sol jusqu'à la profondeur de 30 cm.

Chapitre V: La nitrification: un handicap contourné par les écosystèmes savanes?

Ce chapitre portera également sur le contrôle éventuel de l'espèce dominante *H. diplandra* sur le potentiel de nitrification, mais, dans ce cas, ***via* une approche directe** fondée sur la manipulation de l'écosystème. Des parcelles expérimentales ont donc été créées *in situ*, en plantant dans chaque site des *H. diplandra* provenant du même site (témoins) et des *H. diplandra* provenant de l'autre site.

Enfin, nous évaluerons si l'hypothèse d'une interaction entre présence/absence de nitrification et performance de l'écosystème peut être proposée.

Chapitre VI: Source de variations de la production primaire entre sites de savanes à fort et faible potentiel de nitrification: différences d'accessibilité aux nutriments, ou différences de modes de croissance entre deux sous-populations d'herbacées?

Dans ce chapitre, nous comparerons plusieurs critères phénotypiques, à la fois *in situ* et en conditions contrôlées (en serre), touchant la taille, la croissance et l'appareil photosynthétique des deux sous-populations d'*H. diplandra* des deux sites.

Des parcelles expérimentales ayant été aussi créées *in situ*, en plantant en alternance (damier) dans chaque site des *H. diplandra* provenant du même site (témoins) et des *H. diplandra* provenant de l'autre site, nous étudierons les critères phénotypiques de taille des touffes sur trois ans en conditions de compétition interspécifique.

Enfin dans le chapitre **VII "Discussion générale – Perspectives – Evaluation de leur pertinence et/ou de leur faisabilité"**, nous chercherons (1) à extraire les principales interprétations du travail expérimental présenté, (2) à proposer des prolongements à court et moyen termes, et (3) à évaluer, à l'aide d'expériences préliminaires déjà effectuées sur certains aspects, la pertinence et/ou la faisabilité des prolongements proposés.

«Ecological science is in transition, and different ecological schools are being linked across scales – from physiological to landscape. New tools, sophisticated devices […] are offering new opportunities to investigate the relationships between organisms, processes and patterns across scales from microcosms to megacosms»

A. Farina, 1999

CHAPITRE II: Bases bibliographiques

LE PROCESSUS DE NITRIFICATION

La nitrification est classiquement définie comme le processus microbiologique par lequel l'ammonium (NH_4^+) est oxydé en nitrite (NO_2^-) puis en nitrate (NO_3^-). C'est une étape clé du cycle de l'azote dans les écosystèmes, puisqu'elle participe à la nutrition des plantes (dépendante de la forme de l'azote) et aux pertes d'azote en permettant la dénitrification et le lessivage du nitrate. D'autres voies de production du NO_2^- et du NO_3^- existent ("nitrification hétérotrophe" et "nitrification chimique"), mais leur réalité *in situ*, ainsi que leur importance quantitative dans les écosystèmes n'ont jamais pu être démontrées (Bartlett, 1981; Schmidt, 1982; Haynes, 1986). Nous nous intéresserons donc par la suite au processus de nitrification au sens strict, réalisé par une microflore bactérienne en conditions de chimiolithotrophie.

1. LES BACTERIES NITRIFIANTES

1.1 Taxonomie et phylogénie

Les réactions de la nitrification sont principalement réalisées par deux groupes de bactéries appartenant à la famille des *Nitrobacteriaceae* (Watson *et al*., 1989). Le premier groupe, oxydant l'ammonium en nitrite (nitritation), inclut par exemple le genre *Nitrosomonas*. Le second groupe, oxydant le nitrite en nitrate (nitratation), inclut par exemple le genre *Nitrobacter*.

Il s'agit de bactéries Gram négatives, de petite taille, à mobilité variable et appartenant à la famille des *Nitrobacteriaceae* (Tableau II.1).

Tableau II.1: La famille des *Nitrobacteriaceae* (d'après Watson *et al*., 1989; Koops *et al*., 1991; Bock *et al*., 1990; Sorokin *et al*., 1998).

Type d'oxydation	Genre	Espèces
$NH_4^+ \varsigma NO_2^-$	*Nitrosomonas*	*N. aestuarii* *N. communis* *N. cryotolerans* *N. europeae* *N. eutrophora* *N. halophila* *N. marina* *N. nitrosa* *N. oligotropha* *N. ureae*
	Nitrosococcus	*N. mobilis* *N. nitrosus* *N. oceanus*
	Nitrospira	*N. briensis*
	Nitrosolobus	*N. multiformis*
	Nitrosovibrio	*N. tenuis*
$NO_2^- \varsigma NO_3^-$	*Nitrobacter*	*N. alkalicus* *N. hamburgensis* *N. vulgaris* *N. winogradskyi*
	Nitrococcus	*N. mobilis*
	Nitrospira	*N. marina*
	Nitrospina	*N. gracilis*

La diversité des genres et espèces de bactéries oxydant l'ammonium est actuellement reconnue, mais celles oxydant le nitrite ont reçu moins d'attention et peu d'études par analyse de séquences génétiques existent (Degrange, 1996). D'un point de vue phylogénétique, toutes les bactéries nitrifiantes sont membres des Protéobactéries, large groupe bactérien dont l'ancêtre présumé est photosynthétique (Woese, 1994). Les bactéries nitrifiantes se répartissent dans quatre des cinq subdivisions des Protéobactéries (Figure II.1). Les bactéries oxydant l'ammonium, à l'exception de *Nitrosococcus oceanus*, forment un groupe compact dans la subdivision β. Celles oxydant le nitrite se répartissent dans trois subdivisions (α, γ, δ).

La famille des *Nitrobacteriaceae* est donc une famille polyphylétique, et il reste encore des recherches à effectuer afin d'obtenir des caractéristiques phylogénétiques unifiantes (Woese, 1987). Les bactéries nitrifiantes ne seraient pas dérivées d'un phénotype ancestral nitrifiant, mais seraient apparues indépendamment à partir de différents ancêtres photosynthétiques (Teske *et al.*, 1994). Cependant, malgré cette diversité phylétique, la majorité des nitrifiants est affiliée avec des phototrophes, suggérant un lien évolutif étroit entre la photosynthèse et l'oxydation du nitrite ou de l'ammonium.

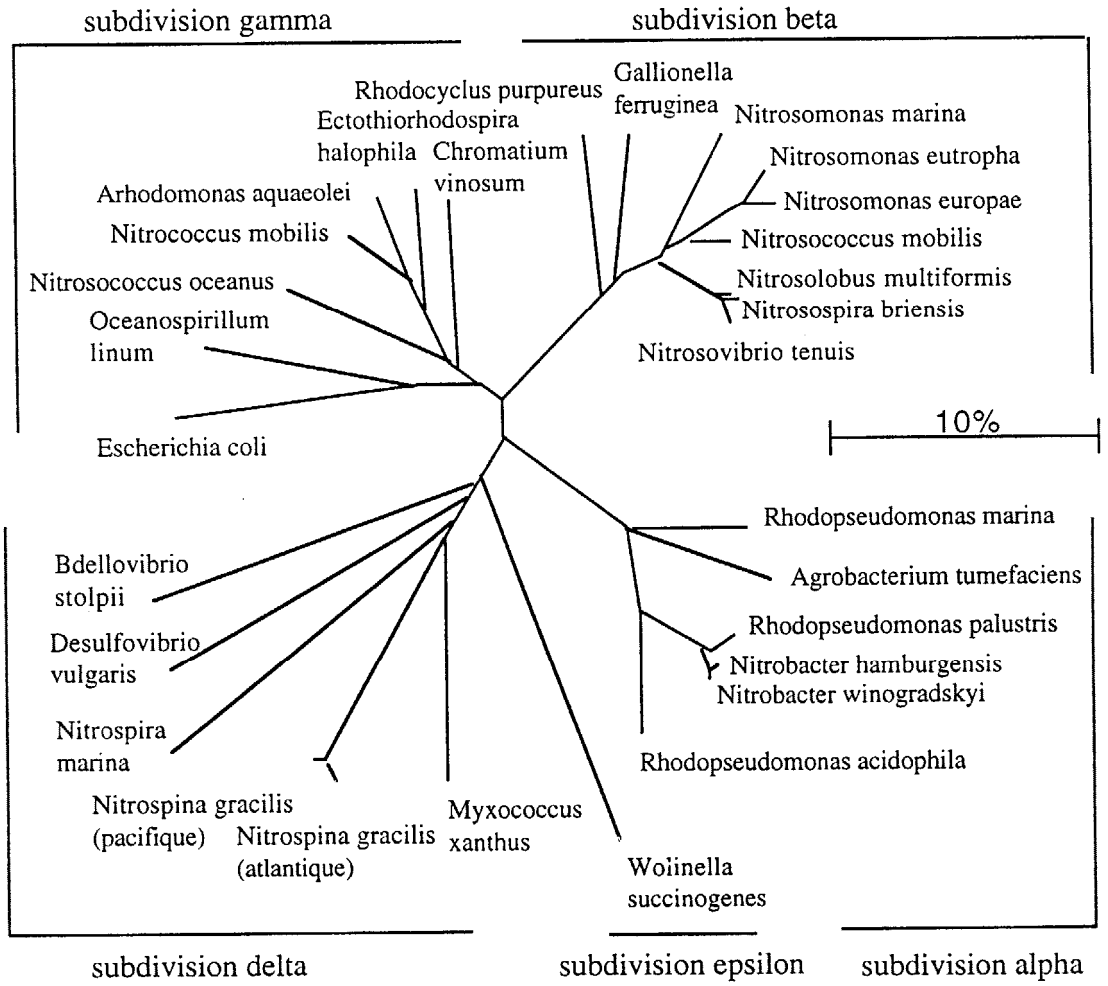


Figure II.1: Arbre phylogénétique des Protéobactéries (d'après Teske *et al.*, 1994; Degrange, 1996).

1.2 Physiologie et métabolismes

Les bactéries nitrifiantes tirent leur énergie de l'oxydation du NH_4^+ ou du NO_2^- et utilisent le CO_2 comme source de carbone. Cette réaction s'effectue en aérobiose avec O_2 comme accepteur final d'électron, et l'énergie issue des oxydations est produite sous forme d'ATP permettant la réduction du CO_2 *via* le cycle de Calvin.

La nitritation par *Nitrosomonas* est équilibrée comme suit:

$$NH_4^+ + {}^3/_2\ O_2 \varsigma NO_2^- + 2H^+ + H_2O + 64\ KCal$$

Il faut noter que du N_2O est produit pendant cette réaction (Yoshida & Alexander, 1970), ce qui peut mener à des pertes gazeuses d'azote pour l'écosystème (Haynes & Sherlock, 1986).

La nitratation par *Nitrobacter* est équilibrée comme suit:

$$NO_2^- + {}^1/_2\ O_2 \varsigma NO_3^- + 2H^+ + 17\ KCal$$

De nouvelles considérations sont cependant à prendre en compte en ce qui concerne l'activité métabolique des bactéries nitrifiantes: il est maintenant acquis que ces microorganismes sont capables d'utiliser dans une certaine mesure le carbone organique pour leur croissance en culture pure, en conditions de mixotrophie (carbone organique et substrat azoté) ou même d'hétérotrophie (carbone organique seul) (Bock *et al.*, 1983). Il semble même que certaines bactéries nitratantes soient capables de survivre et de se multiplier dans les sols sans oxyder le nitrite, en utilisant le carbone organique présent (Degrange *et al.*, 1998). La nitrification ne peut donc plus être considérée, comme on l'a longtemps pensé, comme une fonction obligatoire pour la croissance des microorganismes qui en sont responsables.

1.3 Répartition et diversité naturelle des bactéries nitrifiantes

Les micro-organismes nitrifiants colonisent une grande diversité d'habitats (sols, eaux douces et marines, sédiments...) (Painter, 1986; Bock *et al*., 1989).

Dans les sols, on rencontre les genres *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus* et *Nitrosovibrio* pour l'oxydation de l'ammonium, avec *Nitrosolobus* considéré comme le genre oxydant l'ammonium le plus représenté (MacDonald, 1986). Par contre, un seul genre oxydant le nitrite, *Nitrobacter*, a pour l'instant été rencontré dans les sols, même si la présence du genre *Nitrospira* est aussi fortement suspectée.

2. LES FACTEURS REGULANT LA NITRIFICATION

2.1 Substrats et produits

Les nitrifiants autotrophes sont dépendants du NH_4^+ ou du NO_2^- comme source d'énergie, et donc la concentration de ces substrats dans les sols est un facteur important de régulation de la nitrification par stimulation ou par répression.

Des études ont montré par exemple que l'apport de NH_4^+ (McLaren, 1971) ou de NO_2^- (Ardakani *et al*., 1973; Degrange *et al*., 1997) au sol pouvait fortement stimuler une croissance des *Nitrosomonas* ou des *Nitrobacter*.

Concernant la répression, il existe dans les sols un seuil de tolérance aux concentrations en ammonium. Cet effet répressif de l'ammonium a été attribué aux effets toxiques du NH_3 à fort pH (Stojanovic & Alexander, 1958), ou à une baisse de ce pH quand l'apport se fait sous forme $(NH_4)_2SO_4$ (Malhi & McGill, 1982). Ces mécanismes pourraient

cependant varier suivant les conditions physico-chimiques du sol. On a aussi observé un effet répressif du nitrate sur les *Nitrosomonas*, comme sur les *Nitrobacter* (Haynes, 1986).

2.2 pH du sol

Le pH du sol est un facteur connu de régulation de la nitrification, en jouant sur les influences potentielles de l'ammonium, du nitrite et du nitrate. En culture, le pH optimal se situe entre 7,5 et 8,5 (Bock *et al*., 1989). Cependant, dans les sols à pH supérieur à 7,5, on peut trouver un effet toxique de l'ammonium. Dans les sols à pH acide, on observe une limitation pour les nitrifiants autotrophes vers 4,5 (Sahrawat, 1982), et la toxicité de l'aluminium à ces pH est alors supposée jouer un rôle de premier ordre dans la limitation de l'activité nitrifiante (Brar & Giddens, 1968). Cependant, il faut moduler cette influence du pH: des bactéries du genre *Nitrobacter* ont été observées tolérant des pH acides et étant actives en tant que cellules libres (Hankison & Schmidt, 1988). L'explication de cette tolérance est encore en discussion.

2.3 Aération et humidité du sol

La nature oxydative du processus de nitrification implique une sensibilité des bactéries à l'oxygène. En règle générale, le maximum de nitrification est observé pour des potentiels d'humidité du sol entre –10 et –33 kPa (Malhi & McGill, 1982), dépendant des propriétés du sol et jouant sur son aération. A 0 kPa, la nitrification est absente pour cause de manque d'oxygène. Aux valeurs inférieures à –1500 kPa (point de flétrissement permanent), l'activité nitrifiante est aussi fortement inhibée (Dommergues, 1966).

2.4 Température

Les températures optimales pour la nitrification se situent entre 25 et 37°C (Gay, 1983; Josserand, 1983), mais ce processus peut avoir lieu entre 5 et 42°C (Gay, 1983). Les nitrifiants indigènes semblent adaptés aux températures de leurs régions (Mahendrappa *et al*., 1966). Le passage d'un feu influe sur la nitrification, mais dans des proportions variant avec l'historique du feu dans un site donné (Carreira *et al*., 1994).

2.5 Limitation par l'ammonium sous végétation

La disponibilité du NH_4^+ représente un facteur important de régulation de la nitrification. Sous couvert végétal, existe une compétition forte entre les racines et les nitrifiants pour ce substrat. Or, les nitrifiants sont considérés comme de faibles compétiteurs par rapport aux végétaux et les hétérotrophes pour le NH_4^+ (Jones & Richards, 1977; Schmidt, 1982). Le NH_4^+ non immobilisé dans la rhizosphère des Graminées est rapidement absorbé par les racines, cette vitesse d'absorption limitant la nitrification dans les écosystèmes herbeux (Huntjens, 1971). En forêts, ces observations ont également été vérifiées (Jordan *et al*., 1979; Vitousek *et al*., 1979; Robertson, 1982, 1989). Dans le cas d'un bouleversement de la couverture végétale, par exemple lors d'une déforestation, les organismes nitrifiants voient leur accès à l'ammonium facilité, et donc le potentiel de nitrification augmente tandis que des pertes importantes par lixiviation apparaissent (Vitousek, 1981).

2.6 Limitation par une déficience en nutriments

La déficience en nutriments autre que l'azote, principalement le phosphore, peut aussi limiter la nitrification, comme c'est le cas dans certaines savanes (Purchase, 1974). Mellilo (1981) a montré en sols de forêts que la nitrification était supérieure avec un apport NH_4^+-N plus phosphate, qu'avec un apport NH_4^+ seul. Cette limitation par déficience en phosphate a des implications écologiques, puisque lors des phases de successions végétales, l'action climatique et la lixiviation à long terme finissent par réduire la fertilité des sols, et en particulier la disponibilité en phosphate (Walker & Syers, 1976). Dans les écosystèmes à l'équilibre, la nitrification pourrait donc être limitée par cette déficience.

2.7 Eléments traces, pesticides et inhibiteurs spécifiques

La contamination dans les sols par des éléments traces peut engendrer une inhibition de la nitrification. De petites quantités de certains éléments tels que Cr, Cd et Cu peuvent avoir un impact très important (Chang & Broadbent, 1982). Cependant, les effets toxiques de ces éléments dépendent des caractéristiques du sol, et les nitrifiants peuvent s'adapter à ces pollutions en développant une tolérance aux éléments traces (Rother *et al*., 1982).

Les nitrifiants autotrophes sont considérés comme de bons bio-indicateurs de certains types de contamination puisqu'ils figurent parmi les organismes du sol les plus sensibles aux pesticides (Schmidt, 1982). L'action des pesticides dépend toutefois des conditions environnementales. Les fumigants sont des inhibiteurs de nitrification à de faibles doses (Goring & Laskowski, 1982). Aux taux normaux d'application, la plus grande part des fongicides, insecticides et herbicides n'affecte pas la nitrification, mais peut le faire dès que ces doses sont dépassées.

Au cours des dernières années, des inhibiteurs chimiques ont été développés en vue de réguler la nitrification dans les systèmes cultivés (Huber *et al*., 1977). Le plus commun d'entre eux est la nitrapyrine. Ces inhibiteurs agissent principalement sur les bactéries oxydant l'ammonium, *Nitrobacter* y étant moins sensible, mais les réponses varient considérablement entre les souches de nitrifiants (Belser & Schmidt, 1981). Une fois de plus, les effets de ces inhibiteurs dépendent des caractéristiques du sol, et les nitrifiants pourraient s'adapter à ces produits en développant une tolérance.

3. INHIBITION PAR DES SUBSTANCES ALLELOPATHIQUES

Le terme allélopathie fait référence à l'influence d'un organisme sur un autre *via* des sécrétions d'exsudats chimiques. Plusieurs résultats (voir ci-dessous) ont conduit à l'hypothèse que certaines plantes pourraient inhiber la nitrification par l'action de substances allélopathiques. Cette hypothèse, jamais clairement prouvée, a donné lieu à de longues controverses ne permettant pas de trancher entre son affirmation ou son infirmation.

En 1951, Theron, afin d'expliquer les faibles niveaux de nitrification sous les Graminées, émit l'hypothèse que les plantes pérennes excrétaient de faibles quantités d'une substance toxique inhibant spécifiquement les bactéries nitrifiantes: le débat était alors lancé. En 1952, Stiven a montré que sous la Graminée *Trachypogon plumosus*, la nitrification semblait inhibée en conditions contrôlées. Des lavis racinaires ont montré que les extraits possédaient certaines capacités antibiotiques. En 1963, Robinson émit l'hypothèse que cette inhibition sous les Graminées pourrait être due à un effet rhizosphérique indirect, les plantes limitant de façon drastique l'ammonium disponible pour les nitrifiants. Boughey *et al*. (1964), Munro (1966a, b) et Meiklejohn (1962, 1968) ont observé *in situ* et montré par des lavis (eau ou alcool) ou des extraits racinaires, que les espèces d'*Hyparrhenia* semblaient capables

d'inhiber la nitrification *via* une substance hydrosoluble et sensible à la chaleur. Mellilo (1977) a obtenu des résultats identiques à partir d'extraits racinaires d'arbres. Basaraba (1964) a obtenu une inhibition de la nitrification par des tannins végétaux.

Rice & Pancholy (1972, 1973, 1974) et Rice (1979) ont montré alors que dans les phases de successions végétales de prairies (jusqu'à l'équilibre), la nitrification dans les sols diminuait au cours de la succession, alors que les concentrations en ammonium augmentaient. Le nombre de *Nitrosomonas* dans ces même sols baissait également fortement. Lodhi (1977, 1978), Todd *et al*. (1975) et Wheeler & Donaldson (1983) ont observé ce phénomène dans d'autres successions d'écosystèmes forestiers. De plus, Rice & Pancholy (1973, 1974) ont observé que plusieurs composés organiques (comme les tannins et les acides phénoliques) étaient produits par des plantes dominantes dans les états de succession intermédiaires et à l'équilibre (climax), et qu'ils possédaient à faible concentration un pouvoir inhibiteur fort sur les bactéries nitrifiantes. Les concentrations de ces produits augmentent avec le stade de succession. D'autres auteurs ont observé ce phénomène sur des composés phénoliques (Baldwin *et al*., 1983; Howard & Howard, 1991 & 1993) de forêts subalpines et tempérées.

Cependant, aucune évidence directe d'inhibition allélopathique de la nitrification n'a été montrée. On peut suspecter dans les manipulations de lavis ou d'extraits racinaires une concentration de produits inhibiteurs très supérieure à ce qui pourrait se trouver en réalité dans les sols. L'addition aux sols d'extraits végétaux constituerait une source additionnelle de carbone pour la biomasse hétérotrophe amenant à une immobilisation du NH_4^+, ce qui conduit à une baisse du potentiel de nitrification. Purchase (1974) a montré que si des extraits racinaires d'*Hyparrhenia* pouvaient exprimer un effet inhibiteur en culture pure, aucun effet n'était visible dans des sols incubés. D'autres auteurs (Rennie *et al*., 1977; Smit & Woldendorp, 1981) n'ont pas observé d'inhibition dans la rhizosphère de plusieurs Graminées. Enfin, d'autres hypothèses, comme la déficience en phosphate (Purchase, 1974)

ou une trop forte concentration en aluminium dans les sols (Brar & Giddens, 1968) ont été avancés pour rendre compte de l'inhibition du processus de nitrification.

En conclusion, les données et hypothèses concernant une inhibition allélopathique sont conflictuelles, et surtout aucune expérience directe *in situ* n'a permis de démontrer ce mode de régulation de la nitrification par les plantes.

4. METHODES DE MESURE DE LA NITRIFICATION DANS LES SOLS

Il existe deux grands types d'approche pour évaluer l'activité nitrifiante dans des environnements complexes, et en particulier dans les sols:

(1) Comparaison de la teneur en ammonium d'échantillons de sols incubés en présence ou en absence d'inhibiteurs de la première étape de la nitrification (tels que la nitrapyrine) (Chalk *et al*., 1990). Cette méthode présente l'avantage de ne pas reposer sur la mesure de l'accumulation du nitrate et d'éviter ainsi une sous-estimation de l'activité mesurée par intervention de la dénitrification. Les inconvénients sont néanmoins multiples: (1) incubations de longue durée du fait de la faible sensibilité des techniques de dosage de l'ammonium. Ceci peut avoir pour conséquence de rendre non négligeables les interférences dues à des processus abiotiques ou biotiques consommateurs de cette forme d'azote (Sahrawat, 1989); (2) la nitrapyrine, ainsi que d'autres inhibiteurs, peuvent affecter d'autres processus microbiens dans le sol et modifier ainsi son fonctionnement biologique (Chalk *et al*., 1990).

(2) Mesure du nitrate accumulé après incubation en absence d'inhibiteurs et en présence ou en absence d'un excès de substrat ammoniacal (participant à la notion de potentiel d'activité). La validité des méthodes reposant sur ce principe et appliquées soit *in*

situ (utilisation de lysimètres et dosage du nitrate dans les lessivats – Degrange *et al*., 1998) soit *in vitro* (dosage du nitrate après extraction KCl (Morris & Riley, 1963)), dépend essentiellement de la durée de l'incubation. En effet, l'importance éventuelle des processus interférents consommateurs du nitrate produit (immobilisation et dénitrification essentiellement) est proportionnelle à cette durée. Cette dernière dépend elle-même des critères de spécificité, seuil de détection et précision des techniques utilisées pour doser le nitrate (Robertson, 1982). Les techniques de colorimétrie, de chromatographie ionique ou de distillation, peu performantes vis-à-vis d'un ou plusieurs de ces critères (en fonction des types de sol), impliquent donc l'utilisation d'incubations de longue durée (souvent plusieurs semaines). Une méthode de mesure du potentiel de nitrification (Lensi *et al*., 1986) nécessitant de très courtes incubations permet d'éviter, dans une large mesure, les interférences dues à l'interventions des processus microbiens consommateurs de nitrate. Cette amélioration est obtenue grâce à l'utilisation d'une technique biologique de dosage du nitrate (transformation du nitrate en oxyde nitreux par des bactéries dénitrifiantes apportées à l'échantillon de sol soumis à des conditions anaérobies, après une incubation aérobie permettant la nitrification pendant 48 heures). En anaérobiose, l'oxyde nitreux ne peut être produit qu'à partir du nitrate, et le dosage de ce gaz par chromatographie en phase gazeuse présente de très faibles seuils de sensibilité et une bonne précision. L'utilisation de cette méthode permet de satisfaire aux critères cités plus haut.

5. LE PROCESSUS DE NITRIFICATION DANS LES ECOSYSTEMES

5.1 Variation de la nitrification dans les écosystèmes

Le rôle ou l'impact de la nitrification au sein des écosystèmes a depuis longtemps fait l'objet d'importants débats: des études agronomiques ont montré que la nitrification jouait un rôle considérable dans les sols cultivés (Allison, 1973), alors que d'autres études en écosystèmes naturels matures ont montré que la nitrification était négligeable (Bormann & Likens, 1979; Jordan *et al*., 1979; Melillo, 1981). Dans ce dernier cas, l'inhibition de la nitrification a souvent été perçue comme permettant de limiter les pertes d'azote inhérentes au nitrate (dénitrification et lixiviation - Vitousek *et al*., 1979).

Se fondant sur des incubations *in situ* pour mesurer un potentiel de nitrification, Ellenberg (1971) a tenté de classer les écosystèmes européens en trois types: (i) dominance de l'ammonium; (ii) mixité ammonium/nitrate; et (iii) dominance du nitrate (Tableau II.2). Cependant, Haynes (1986) a mis en cause la validité de ces mesures (surestimation de la production de nitrate) et suggère donc de considérer la classification d'Ellenberg avec précaution.

Tableau II.2: Types d'écosystèmes classés suivant des mesures de potentiels de nitrification *in situ* (d'après Ellenberg, 1971).

Type NH_4^+	**Type NH_4^+/NO_3^-**	**Type NO_3^-**
Taïgas, toundras	Forêts tempérées décidues sur sols glaiseux	Forêts tropicales humides de plaine
Forêts subalpines de conifères	Forêts alluviales	Forêts décidues tempérées sur sols calcaires
Forêts de conifères de tourbières	Marais à aulnes (*Alnus glutinosa*)	Prés fertilisés à sol sec
Forêts de bouleaux et chênes	Majorité des Prairies	Jardins
Landes à bruyères	Prairies sèches sur sols calcaires	
Marécages	Savanes tropicales	Formations rudérales
Marais à sphaignes	Quelques forêts tropicales	

En plus des variations entre écosystèmes, une forte variabilité intra-site de la nitrification a souvent été observée, parfois même à une petite échelle (Zak & Grigal, 1991; Clays-Josserand *et al.*, 1991; Davidson & Hackler, 1994; Roy & Singh, 1995; De Boer *et al.*, 1996).

5.2 Rôle de la nitrification dans les écosystèmes

La nitrification conditionne donc l'équilibre entre les différentes formes minérales de l'azote, ainsi que les pertes potentielles, et influence les écosystèmes par son impact d'une part sur les bilans globaux d'azote et d'autre part sur la nutrition des végétaux. La nitrification peut donc être vue, à la fois, comme un processus limitant ou favorisant le fonctionnement des écosystèmes (Haynes, 1986).

La production de nitrate peut conduire à des pertes d'azote par dénitrification et par lixiviation, du fait de la mobilité de cet anion dans les sols. La lixiviation du nitrate participe à la pollution des nappes phréatiques. Le nitrate est aussi plus coûteux pour la plante, puisqu'il nécessite une absorption racinaire active et que son assimilation par l'enzyme nitrate réductase demande une grande quantité d'énergie (Solomonson & Barber, 1990). Enfin, la nitrification peut mener à une acidification du sol autour des racines par production de protons (Haynes & Goh, 1978).

La présence de nitrate permet cependant également de réduire les effets toxiques de l'ammonium à haute dose pour la plante (Haynes & Goh, 1978), ou encore de diminuer les pertes d'ammonium par adsorption sur les argiles et volatilisation dans les sols à pH basique (Haynes & Sherlock, 1986).

Le couvert végétal peut être adapté de diverses façons à une nutrition nitrique ou ammoniacale (Haynes & Goh, 1978). Une forte hétérogénéité des préférences végétales a été

observée selon les espèces étudiées, mais il semble que pour une majorité de plantes la mixité ammonium/nitrate donne les taux de croissance maximaux.

LES SAVANES

1. DEFINITION ET IMPORTANCE QUANTITATIVE DES SAVANES

Le terme "savane" désigne, selon Bourlière & Hadley (1983), une association prairie tropicale et arbres espacés. Il n'y a cependant pas de consensus général et plusieurs autres définitions ont également été énoncées (voir synthèse de Riou, 1995). Au-delà du concept central de mixité entre arbres et herbes, les limites précises des savanes sont délicates à définir: un exemple de schéma de décision est donné en Figure II.2.

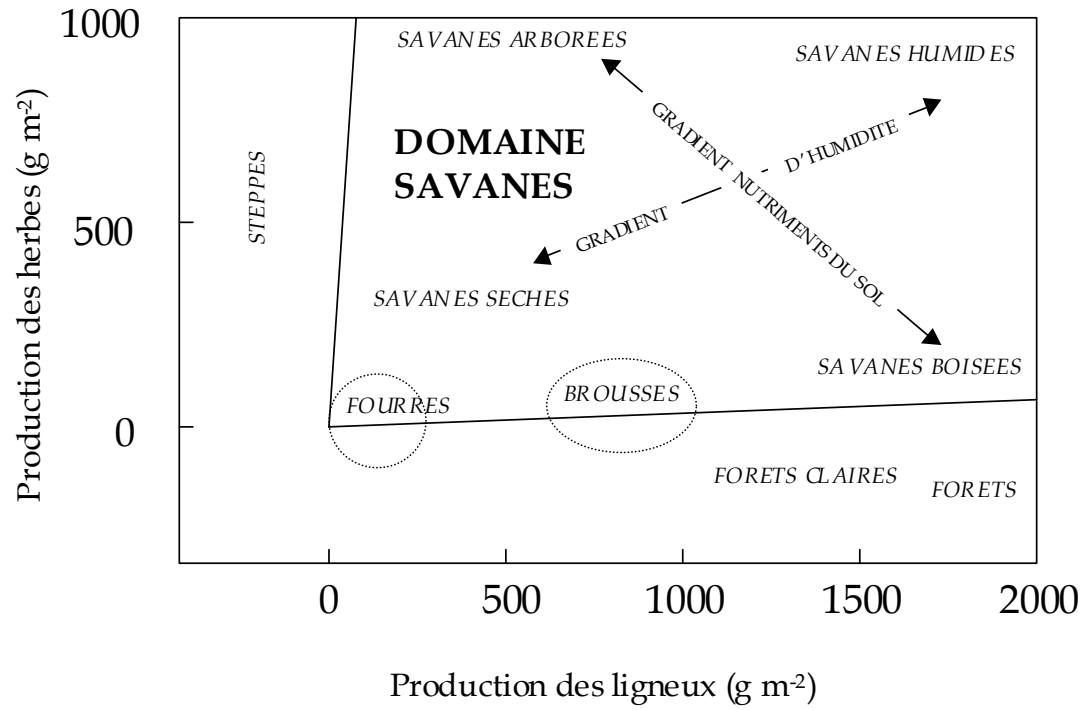


Figure II.2: Les savanes occupent une partie du continuum des types de végétations à proportions variables d'herbes et de ligneux. Les frontières entre types sont arbitraires (d'après Scholes & Walker, 1993).

Cette pluralité et le sens large des définitions résultent d'une grande variabilité des constituants climatiques, physico-chimiques et biologiques de ces savanes: précipitations, durée des saisons (humide *vs.* sèche), importance du feu, pression de dégradation humaine,

équilibre herbe-arbre, caractéristiques du sol, biodiversité, densité et relations trophiques des compartiments végétaux, animaux et microbiens, etc.

Quelle que soit la définition employée posant les limites écologiques et géographiques, donc humaines et économiques, de la savane, cette dernière reste un écosystème quantitativement important à l'échelle du globe. En effet, les savanes, qui représentent l'unité de paysage tropical la plus commune, constituent 1/5 des terres émergées et sont présentes sur quatre continents et dans plus de vingt pays (Figure II.3 et Solbrig & Young, 1993).

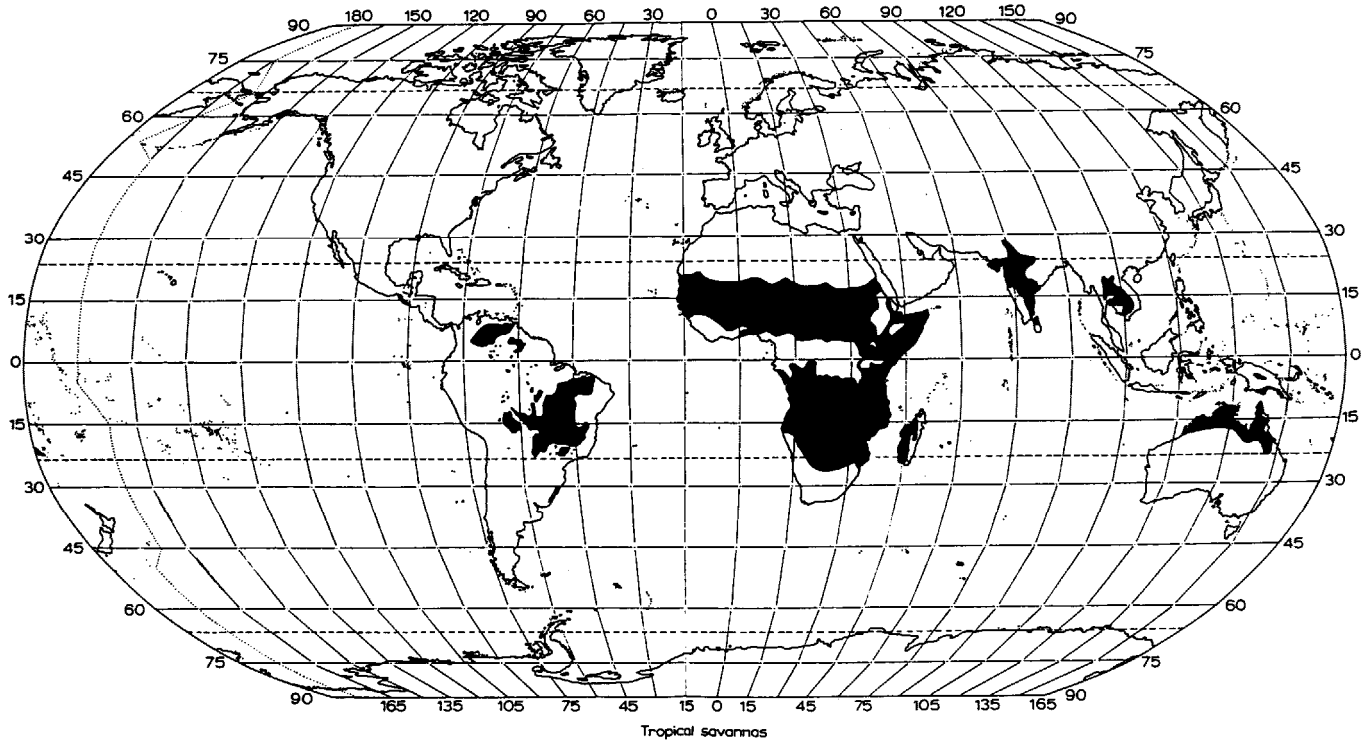


Figure II.3: Distribution mondiale des savanes (d'après Solbrig & Young, 1993).

Elles se situent en seconde place derrière les forêts tropicales pour leur contribution à la production primaire terrestre (Atjay *et al.*, 1987). L'étude scientifique des savanes apparaît donc primordiale dès que l'on veut lier dans ces régions facteur humain, gestion durable et écologie globale. En ce sens, les campagnes d'étude et les projets à long terme ont, ces dernières décennies, considérablement augmenté dans le domaine des savanes tropicales, réduisant un certain retard par rapport aux écosystèmes tempérés (Scholes & Walker, 1993). Cependant, des problèmes fréquents et de différentes natures, concourent à limiter l'étude de ces écosystèmes: ainsi, d'un point de vue humain, on peut rencontrer des "fluctuations" politiques au sein des pays concernés et un manque de moyens techniques locaux. D'un point de vue pratique, les conditions de terrain sont difficiles, tant pour les hommes que pour le matériel, et on se heurte souvent à une forte hétérogénéité spatiale et temporelle des processus observés. Cette hétérogénéité, induite par les contraintes du milieu, génère une plus grande difficulté d'analyse et de généralisation des données, même si en contrepartie elle permet au final de mieux cerner des mécanismes complexes par leur ségrégation spatiale et temporelle. De ce fait, dans un tel contexte, une station d'étude fonctionnant sur le long terme, comme la réserve de Lamto, opérationnelle depuis plus de 38 ans, est un outil précieux.

2. SAVANES AFRICAINES

Plus particulièrement, les savanes constituent un paysage intimement lié à l'Afrique, où elles sont également fortement présentes et variées. Plus de la moitié de la surface du continent est recouverte par des savanes et des associations forêt-savane (Menaut, 1983; Solbrig, 1993). Elles sont, de plus, associées aux régions à plus forte croissance démographique (Scholes & Walker, 1993) et à deux activités économiquement vitales: l'élevage du bétail et le tourisme en réserve naturelle. Une si forte couverture géographique implique une forte hétérogénéité des conditions climatiques: ainsi la pluviométrie varie entre 300 et 1500 mm par an suivant les positions latitudinale et longitudinale. Conjuguée à la richesse du sol (dont l'un des éléments déterminants est la nature de la roche-mère) et à la pression d'exploitation/dégradation, cette variabilité environnementale engendre une grande diversité des types de savanes.

Il y a eu beaucoup de tentatives de classification des savanes africaines, et l'une des principales (White, 1980) sépare les régions guinéennes (Afrique de l'Ouest, savanes humides), soudano-zambéziennes (Afrique Centrale et du Sud, savanes mésiques) et sahéliennes (Afrique du Nord, savanes arides), comme le montre la Figure II.4.

Parmi ces savanes africaines, celles d'Afrique de l'Ouest (les savanes guinéennes), où se trouve notre site d'étude, possèdent des caractéristiques propres (Adjanohoun, 1964): elles forment une bande étroite plus ou moins discontinue sur le pourtour du massif forestier guinéo-congolais. Elles sont enclavées dans des forêts denses ou claires, et parsemées d'arbres dont les palmiers rôniers, cependant aucune espèce végétale n'est spécifique de cet écosystème. Elles sont parcourues par de nombreuses forêts-galeries et contiennent des îlots reliques de forêts denses. Sans brûlis, elles évoluent en forêts denses de type semi-décidu. Enfin, du point de vue du peuplement animal, elles sont pauvres en mammifères.

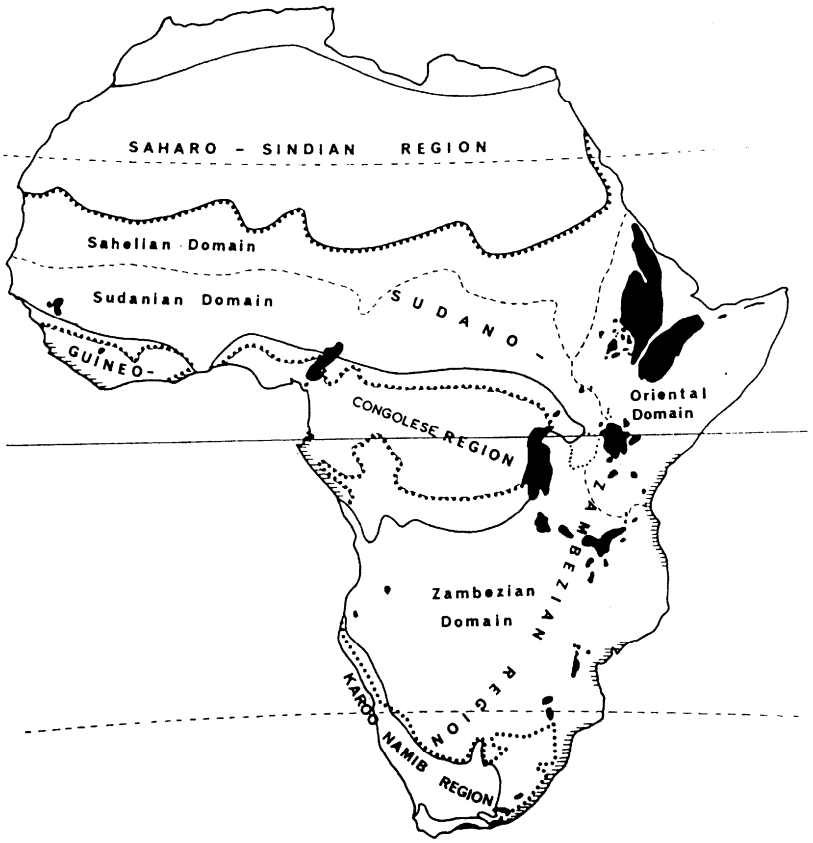


Figure II.4: Les unités phytochorologiques de l'Afrique tropicale. Les communautés de montagne et afro-alpines sont figurées en noir. Les limites du biome savane sont représentées par des lignes pointillées en gras (d'après Menaut, 1983).

PRESENTATION DU MILIEU

1. LOCALISATION ET DEFINITION DE LA RESERVE DE LAMTO

La Station d'Ecologie Tropicale de Lamto se trouve en Côte d'Ivoire (6°13 N, 5°02 W), à 200 km au NNO d'Abidjan et au sud de la formation dite du "V-Baoulé", une zone de savane s'étendant vers le Sud dans la zone forestière (Figure II.5).

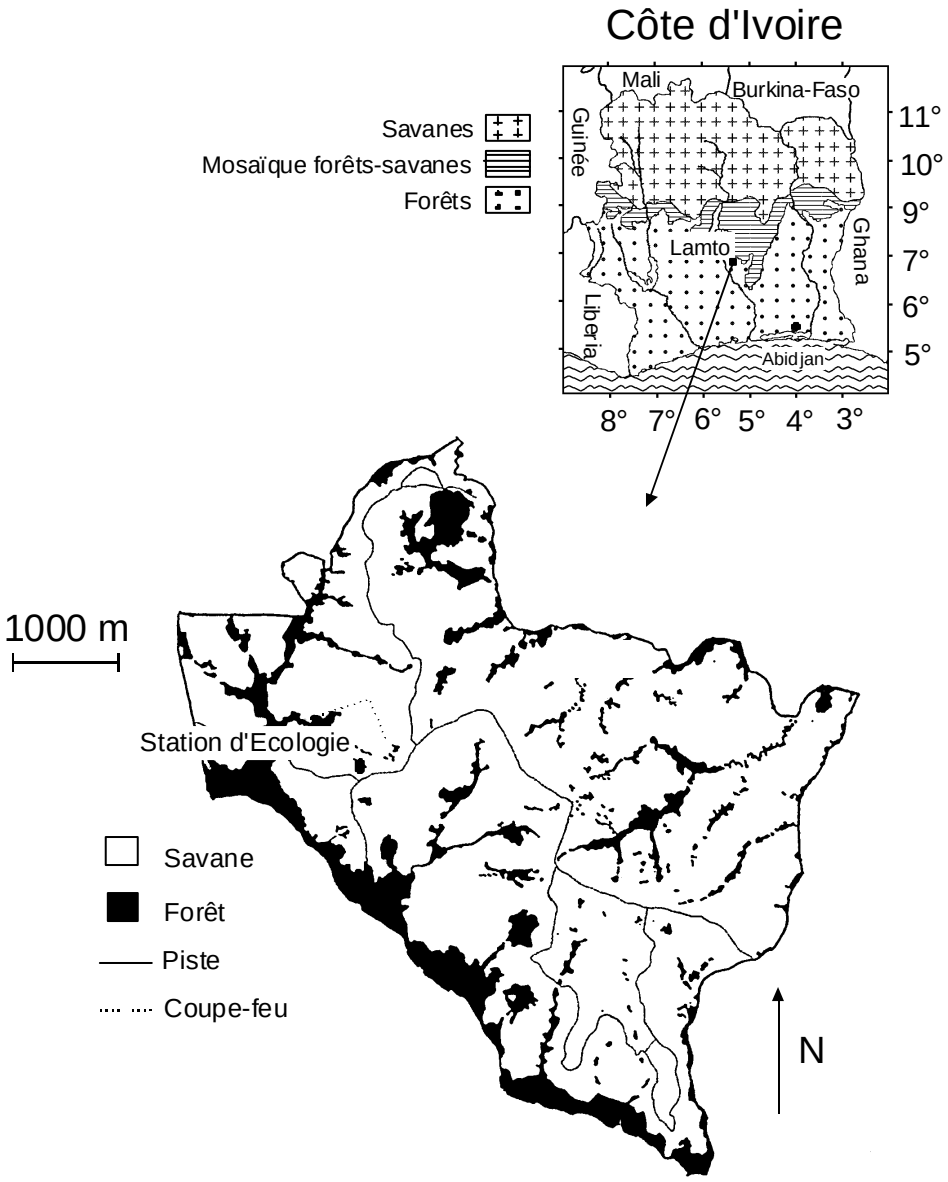


Figure II.5: Localisation de la réserve de Lamto et carte forêt-savane (d'après Gautier, 1990a).

Lamto totalise 2500 ha de réserve (flore et faune). Elle a été créée en 1961 par le Laboratoire de Zoologie de l'Ecole Normale Supérieure de Paris, puis reprise en 1974 par l'Université Nationale et le Ministère de la Recherche de Côte d'Ivoire. Une station de Géophysique est associée à la Station d'Ecologie, permettant un suivi météorologique constant. Le réseau hydrographique régional est constitué par deux fleuves, le Bandama à l'Est et le N'zi à l'Ouest. Lamto a été sélectionnée au titre de site pilote par de nombreux programmes internationaux (PBI, "Homme et Biosphère" (UNESCO), "Biologie et Fertilité des Sols Tropicaux", "Productivité des Savanes de Côte d'Ivoire" (PNUD), Programme International Géosphère-Biosphère, Programme National Sol et Erosion, etc.). Depuis plus de 38 ans, plus de 1500 thèses et publications y ont été produites.

Sa pérennité en fait l'une des plus anciennes stations d'études tropicales encore en activité, et la quantité et la diversité des recherches qui y ont été menées en font sans doute un des écosystèmes tropicaux les mieux connus au monde ainsi qu'un centre de formation privilégié en écologie. Un ouvrage général sur l'état actuel des connaissances à Lamto est en cours de rédaction, et des modèles généralistes, ainsi que des modèles spécifiques fondés sur de nombreuses données de terrain, commencent à bien décrire le fonctionnement de cet écosystème.

Au-delà de cette pérennité, la station de Lamto constitue un atout pour la Côte d'Ivoire puisque: (**1**) elle participe au développement local en étant un acteur économique, puisqu'elle est la seule source de travail salariée pour les villages alentours, et (**2**) elle constitue un site protégé, les paysages rencontrés à Lamto constituent un espace naturel important en termes de biodiversité et de conservation du patrimoine scientifique pour les Ivoiriens et la communauté scientifique mondiale.

Sa structure même en fait un outil scientifique original: située à l'interface forêt-savane, on peut étudier les domaines de transition entre ces deux paysages en relation avec les

changements globaux. De part la nature extrêmement structurée (induite par les fortes contraintes du milieu) des communautés végétales, animales et des flux biogéochimiques, on peut mettre en lumière des modalités de fonctionnement de processus plus difficilement accessibles au sein de systèmes plus homogènes.

Enfin, puisque l'on observe dans la savane de Lamto des processus et des espèces biologiques qui ne lui sont pas entièrement propres, il devient possible de généraliser les résultats à d'autres écosystèmes. Ainsi, certaines Graminées de la famille des Andropogonées rencontrées à Lamto sont invasives en Amérique du Sud. L'importance du feu et son rôle dans la production primaire sont une constante de beaucoup d'écosystèmes tropicaux. La cohabitation herbe-arbre (sens de l'évolution, compétition) est la condition *sine qua non* à l'existence de toutes les savanes. Le rôle des termites comme ingénieurs de l'écosystème est pareillement généralisable. Enfin, les cycles des minéraux (carbone, azote, etc.) constituent de puissants outils de comparaison entre écosystèmes.

2. LE CLIMAT

En Afrique de l'Ouest, on observe un gradient décroissant de précipitations du Sud vers le Nord, causé par les déplacements de la Zone de Convergence InterTropicale (ZCIT), zone à basse pression vers laquelle convergent les alizés et où les masses d'air s'affrontent (Monteny, 1987). Suivant qu'un lieu se trouve au Nord ou au Sud de cette zone, la saison sera respectivement sèche ou humide: l'alizé boréal est très sec et chargé d'aérosols, et l'alizé austral s'est chargé d'humidité sur l'Océan Atlantique. Les déplacements de la ZCIT déterminent donc étroitement le régime climatique et rythment le fonctionnement des écosystèmes d'Afrique de l'Ouest (Le Roux, 1995).

Le climat à Lamto est un climat intertropical humide, de type subéquatorial (Lecordier, 1974; Forge, 1982; Pagney, 1988). Les températures suivent un régime bimodal peu marqué (Figure II.6) avec des traits équatoriaux tels que la faiblesse de l'amplitude annuelle (4°C). Les températures moyennes mensuelles sont d'environ 27°C avec les minima (24°C) durant les saisons sèches. Les températures moyennes journalières varient entre 24 et 30°C en saison sèche, entre 25 et 28°C en saison des pluies.

Les variations pluviométriques engendrent à Lamto un climat de type "éburnéen intérieur typique" (Riou, 1974) avec une transition entre le régime équatorial à quatre saisons et le régime tropical à deux saisons. On observe le régime quadripartite suivant (Figure II.6):

-une grande saison sèche de Décembre à Février. Auparavant, l'harmattan, vent sec du Nord, peut provoquer mi-Novembre une baisse de l'hygrométrie pendant deux à trois semaines;

-une grande saison des pluies de Mars à Juillet. L'humidité de l'air augmente jusqu'à des taux élevés (70%);

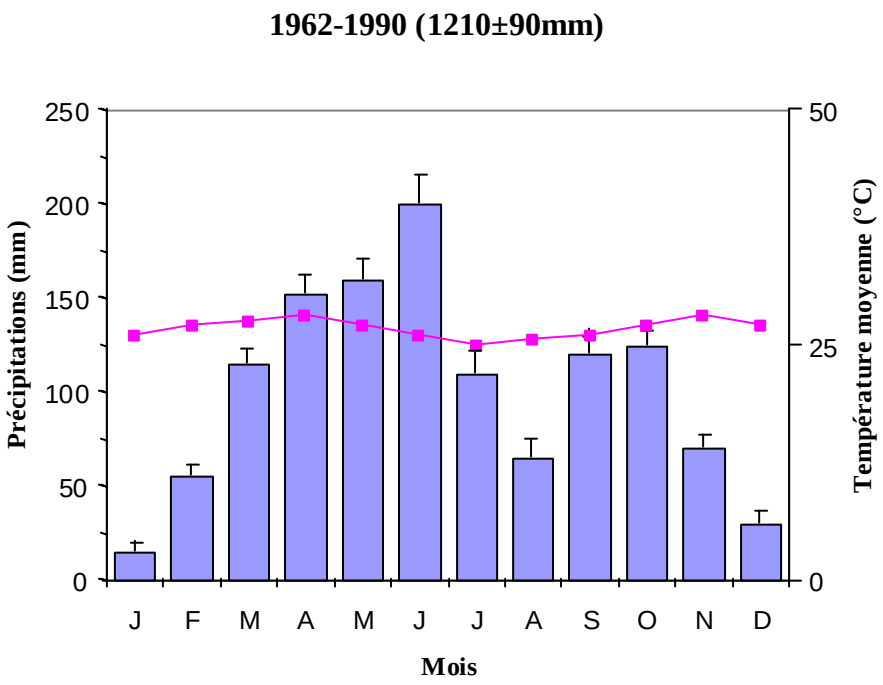


Figure II.6: Diagramme ombrothermique de Lamto entre 1962 et 1990. Données de la Station de Géophysique de Lamto.

-une petite saison sèche, dite récession interpluviale, en Août;

-une petite saison des pluies de Septembre à Novembre.

La pluviosité moyenne à Lamto est de 1200 mm an^{-1}. Cependant, on observe une forte variabilité annuelle (entre 700 et 1700 mm an^{-1} durant la période 1962-1993). Actuellement, en Afrique de l'Ouest et à Lamto, on semble observer un déficit régulier en précipitations annuelles (sensible en début de grande saison humide) et une grande variation annuelle de la répartition des précipitations mensuelles (Paturel *et al.*, 1995).

3. PLUVIOSITE ET TEMPERATURE AU COURS DE LA PERIODE D'ETUDE (1995-1998)

Les températures et précipitations mesurées pendant la période d'étude sont issues des données collectées par la Station de Géophysique de Lamto.

Les pluviosités totales mensuelles sont données dans la Figure II.7. La pluviosité moyenne annuelle sur les quatre années est de 1147 (±103) mm, comparable à la moyenne générale précédemment citée. On peut juste remarquer un déficit en pluie au début de l'année 1995 et un déficit général en pluie pendant l'année 1997 (qui a eu pour conséquence de mauvaises récoltes dans la région).

Les températures moyennes mensuelles sont présentées dans la Figure II.8. Aucune variation notable n'a été observée entre les quatre années, ni entre ces quatre années et les températures précédemment mesurées. On peut juste noter que l'année 1998 a été relativement chaude. Les maxima sont observés dans la période Février-Avril et les minima dans la période Juillet-Août.

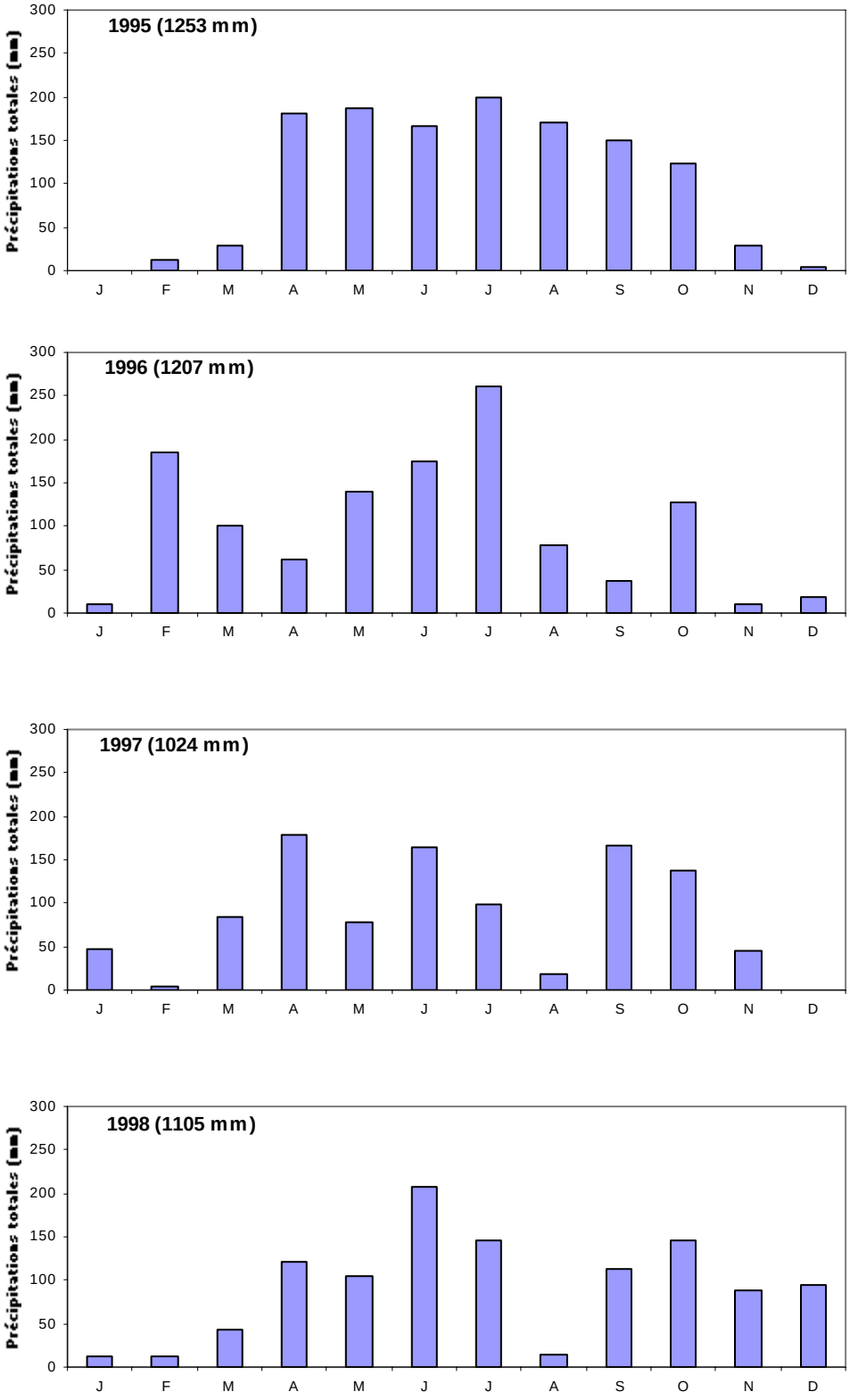


Figure II.7: Précipitations totales mensuelles de la station de Lamto pour la période d'étude 1995-1998. Les chiffres entre parenthèses sont les moyennes annuelles.

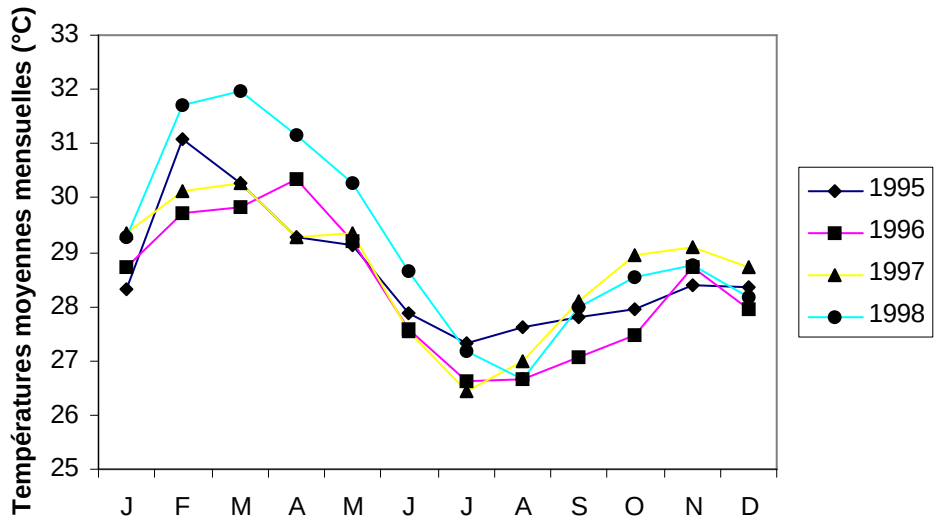


Figure II.8: Températures moyennes mensuelles de la station de Lamto pour la période d'étude 1995-1998.

4. LE FEU

Le feu apparaît comme un facteur à part entière du milieu (Menaut, 1983). D'origine naturelle, la fréquence des feux a augmenté sous la pression anthropique: le feu est mis par les populations locales à la savane afin de libérer de la place pour les communications et les cultures, et aider à la chasse et à l'élevage (Menaut *et al.*, 1991). A Lamto, le feu est artificiellement déclenché, sous contrôle, vers la mi-Janvier. Ce feu détruit en grande partie (entre 50 et 80%) la végétation herbacée épigée (6 à 9 tonnes par an; César, 1971) et les plantules d'arbres. Cependant, la plupart des espèces végétales semblent adaptées à cet événement (Lamotte, 1981): le système racinaire des Graminées pérennes, entre autres, permet aux plantes de repousser dans les semaines suivant le passage du feu, les plantules d'arbre sont capables de rejeter si elles ont accumulé suffisamment de réserves dans les racines et les arbres adultes sont rarement endommagés, parfois affaiblis (Menaut, 1971).

Le feu, sur le long terme, semble jouer un rôle prépondérant dans la structure et la stabilité de la savane, en influant sur le maintien de l'équilibre herbe/arbre (Menaut *et al.*, 1993). En effet, des parcelles non brûlées à Lamto ont été colonisées en moins de trente ans

par les espèces de forêt (Vuattoux, 1970, 1976). Cependant, même les parcelles régulièrement brûlées ont une tendance, qui se retrouve dans d'autres savanes d'Afrique de l'Ouest, à être envahies par les espèces ligneuses (Gautier, 1990b; Dauget & Menaut, 1992).

En plus de leur effets sur la végétation, les feux ont des répercussions sur les horizons superficiels des sols: ils modifient leurs propriétés physiques (Foregeard & Frenot, 1987; Diaz-Fierros *et al.*, 1989), chimiques, physico-chimiques (Russel *et al.*, 1974) et biologiques (Prieto-Fernandez *et al.*, 1993). On observe une perte importante de matière organique, un effet souvent néfaste des hautes températures sur les micro-organismes du sol (Raison, 1979) et donc sur les cycles de nutriments (White, 1986; Kutiel & Naveh, 1987; Marion *et al.*, 1991) et la fertilité des sols (Prieto-Fernandez *et al.*, 1993). Le dépôt des cendres à la surface des sols entraîne généralement une augmentation des teneurs en éléments minéraux (Raison, 1979; Marion *et al.*, 1991), mais ces effets sont variables chaque année suivant la force du vent et de la pluie.

5. LES SOLS

Les sols les plus répandus à Lamto sont les sols ferralitiques, sous forêt, et ferrugineux tropicaux (ou ferralsols pour la classification FAO), sous savane. La roche-mère est constituée d'un socle cristallin précambrien en majorité formé de granites calco-alcalins, mais quelques gisements de roches vertes et d'amphibolites peuvent affleurer et donner naissance à des terres noires ou vertisols (Delmas, 1967; Riou, 1974). Delmas (1967) a distingué quatre principaux types de sols suivant une toposéquence type:

- *les sols ferrugineux tropicaux des plateaux et des hauts de pente*. Ils sont très sableux (de 40 à 60% de sables grossiers et de 20 à 30% de sables fins), pauvres en argiles (constituées en profondeur de matériaux mal cristallisés avec de l'illite et de la

kaolinite), très pauvres en calcium, potassium, phosphore et humus, et dépourvus de calcaire. Ils sont légèrement acides (pH 5-6,5), leur matière organique est présente en surface (de 1,2 à 2%) mais peu abondante au-delà de 25 cm (de 0,5 à 1,5%). Le taux d'azote en surface est de l'ordre de 1‰ et le C/N se situe vers 15. Ces sols, à valeur nutritive faible due au manque d'éléments minéraux, sont remplacés par un horizon gravillonnaire vers 70 cm de profondeur.

- *les sols ferrugineux de pente*. Proches des sols précédents, ils diffèrent par une plus grande imperméabilité et un plus fort contenu en limons. Ils sont plus propices à l'érosion.
- *les sols hydromorphes de bas de pente*. Ces sols montrent en surface des horizons limoneux reposant sur des horizons sableux profonds. Ils sont régulièrement gorgés d'eau.
- *les terres noires sur amphibolites*. Elles possèdent une texture, une structure et des caractères chimiques différents des sols précédents. Ces sols argilo-limoneux sont riches en matière organique (de 3 à 6%) jusqu'à 20 cm de profondeur. Ils sont également faiblement acides (pH de 6 à 3,9), pauvres en potassium et phosphore et riches en magnésium, calcium et argiles (de 18 à 25% en surface, principalement des montmorillonites).

Les sols de Lamto possèdent donc une forte hétérogénéité texturale. Ils sont par contre homogènes pour leur faible valeur agronomique, et leur pauvreté en matière organique, phosphore et potassium (Riou, 1974): d'une façon générale, les contraintes pédogénétiques et climatiques ont conduit à des sols "d'une pauvreté alimentaire extrême" (Delmas, 1967). La matière organique est de plus résistante à la biodégradation (Schaefer, 1974).

Les horizons de surface jusqu'à 60 cm de profondeur constituent le principal réservoir en eau à disposition des plantes (Le Roux, 1995). La disponibilité en eau peut varier

fortement: pour les sols ferrugineux, elle varie de 31 mm (point de flétrissement permanent à la fin de la saison sèche) à 105 mm (valeur de la capacité au champ en saison des pluies). La réserve utile maximale (74 mm pour la couche 0-60 cm) est supérieure aux valeurs observées dans d'autres sols d'Afrique de l'Ouest et la ressource en eau est moins contraignante (Le Roux, 1995). En saison sèche, même si le degré hygrométrique du sol est très faible en journée, l'humidité est faible la nuit et on observe une forte rosée le matin (Lamotte, 1967).

La température du sol est variable: suivant la saison elle varie de 15 à 37°C. L'humidité du sol est pratiquement toujours à saturation en dehors des feux (Blanchart, 1990), créant des situations favorables aux micro-organismes.

Les sites d'études sont principalement situés sur des sols ferrugineux tropicaux.

6. LA FAUNE ET LA FLORE DU SOL

Peu de données sont encore disponibles sur l'écosystème Lamto concernant cette problématique. La microfaune est essentiellement représentée par des protozoaires et des nématodes (Lamotte, 1981). La population microbienne comprend des actinomycètes, des bactéries et des champignons (Barois, 1987). Des croûtes algales (Cyanophycées et Chlorophycées) recouvrent souvent la surface du sol entre les touffes de Graminées, jouant un rôle dans l'apport de substrat énergétique *via* la photosynthèse et la fixation de l'azote atmosphérique.

La mésofaune regroupe, quant à elle, des enchytréides, des larves d'insectes et des myriapodes (Athias *et al.*, 1974).

Enfin, la macrofaune regroupe trois principaux groupes: les vers de terre, les fourmis et les termites (Konaté, 1998).

7. LA VEGETATION

La végétation est agencée en une mosaïque forêt-savane. La savane de Lamto possède une physionomie caractéristique, avec trois strates qui sont les palmiers rôniers, les arbustes et le tapis herbacé continu (Photos 1, 2 – Annexe 1). Herbes et arbres coexistent sous l'effet de différentes contraintes (Frost *et al*., 1986; Skarpe, 1992): le feu, la disponibilité en eau et en nutriments et les herbivores. Cette savane est compartimentée par les galeries forestières qui bordent les cours d'eau (marigots) temporaires ou permanent au fond des talwegs. On trouve également des îlots forestiers en haut de pente, sur les plateaux. Entre ces deux limites, la savane présente différents faciès le long d'une caténa type (Figure II.9).

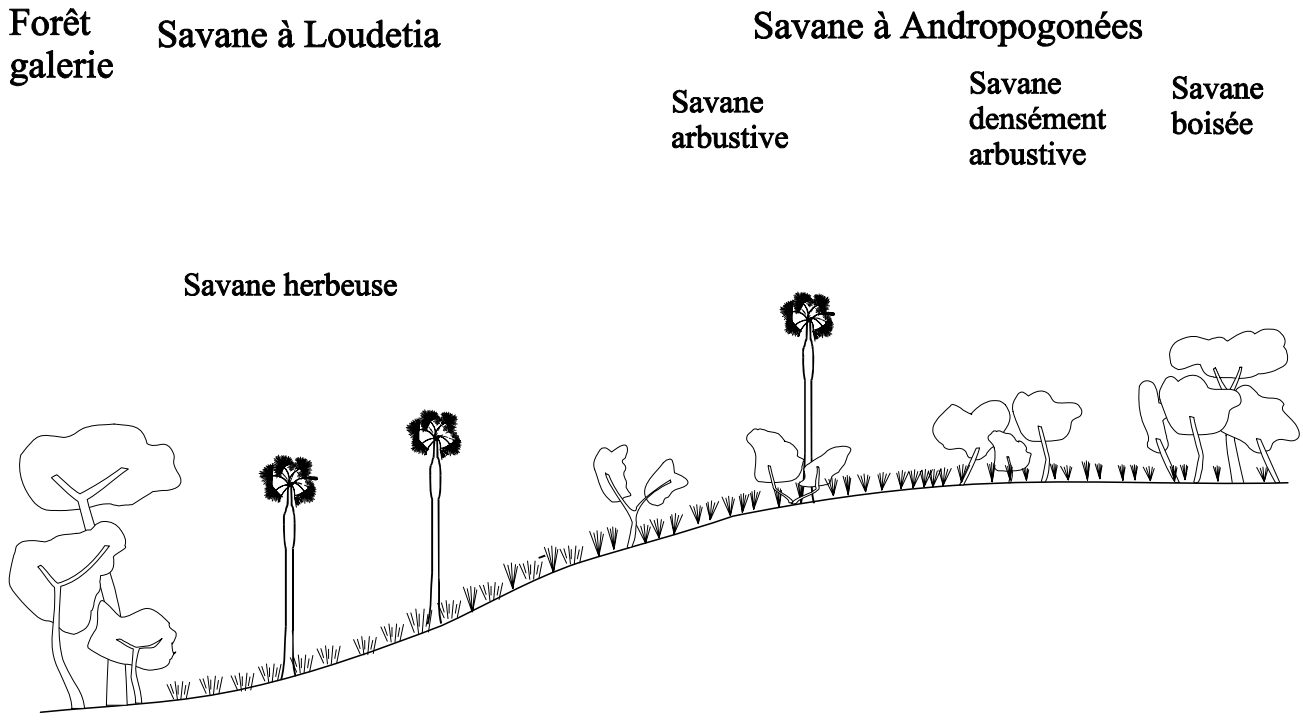


Figure II.9: Caténa type présentant les principaux faciès de savane présents à Lamto (d'après Menaut & César, 1979). Les faciès se rencontrent toujours dans l'ordre présenté, mais un ou plusieurs peuvent être absents de la caténa.

On distingue: (i) la forêt galerie le long des talwegs; (ii) les savanes herbeuses dominées par *Loudetia simplex* dans le tiers inférieur de la pente; (iii) les savanes arbustives à Andropogonées (dominées par *H. diplandra*) à densité variable d'arbustes, occupant les deux tiers supérieurs de la pente; et (iv) les savanes boisées sur les plateaux, avec des espèces ligneuses différentes de celles des savanes arbustives. Notre travail s'est déroulé en savanes arbustives à *H. diplandra*.

Le recouvrement ligneux des savanes a tendance à décroître du haut vers le bas de la pente (Gautier, 1990a & b). La strate arbustive (2 à 7 m) est relativement pauvre et comporte en tout 70 espèces ligneuses. Les espèces principales sont *Bridelia ferruginea, Crossopteryx febrifuga, Cussonia barteri* et *Piliostigma thonningii* (Menaut & César, 1982). Le recouvrement ligneux passe de 62% en haut de savane boisée à 7% de la surface totale en savane herbeuse. Dans ce cas, les arbustes sont concentrés autour et sur des buttes d'origine termitique (Lamotte, 1981; Barot, 1999). La strate arborée (8 à 20 m) n'est présente qu'au niveau des forêts galeries, de la forêt riveraine du fleuve Bandama et de quelques îlots forestiers semi-décidus sur plateaux secs. Les espèces principales sont: *Afzelia africana, Cola gigantea* & *C. laurifolia, Croton scarciesii, Lonchocarpus sericeus, Napoleona vogelii, Pseudospondias microcarpa, Pterocarpus santalinoïdes* et *Triplochiton scleroxylon* (Devineau, 1976).

La strate herbacée (jusqu'à 2,5 m) est largement dominée par les Graminées (75 à 99% de la biomasse totale (César, 1971; César & Menaut, 1974)). Les principales espèces sont: *Andropogon canaliculatus, A. schirensis, Brachiaria brachylopha, Hyparrhenia diplandra, H. smithiana, Imperata cylindrica, Loudetia simplex, Panicum fulgens* et *Schizachyrium platyphyllum*. La production primaire de la strate herbacée est considérable et varie, selon les années, de 10 à 14 tonnes par an et par hectare pour la partie épigée, et de 10 à 15 tonnes par an et par hectare pour la partie hypogée (Abbadie, 1983).

8. STRUCTURATION SPATIALE DE L'ECOSYSTEME

La savane de Lamto est fortement structurée spatialement. Cette structuration particulière de l'écosystème est suspectée permettre au couvert végétal de s'affranchir de la pauvreté du sol en nutriments en créant des "îlots de fertilité", à savoir des taches de sol enrichi en nutriments faciles à exploiter (Abbadie *et al.*, 1992b; Mordelet *et al.*, 1996; Abbadie *et al.*, 1996; Konaté, 1998; Barot, 1999). A l'échelle de la parcelle, on peut donc observer (Figure II.10) plusieurs sources d'hétérogénéité induites par l'organisation des composantes de la savane: (i) la présence d'accidents rocheux; (ii) la répartition spatiale des ligneux; (iii) la présence de buttes d'origine termitique; et (iv) la répartition des Graminées en touffes.

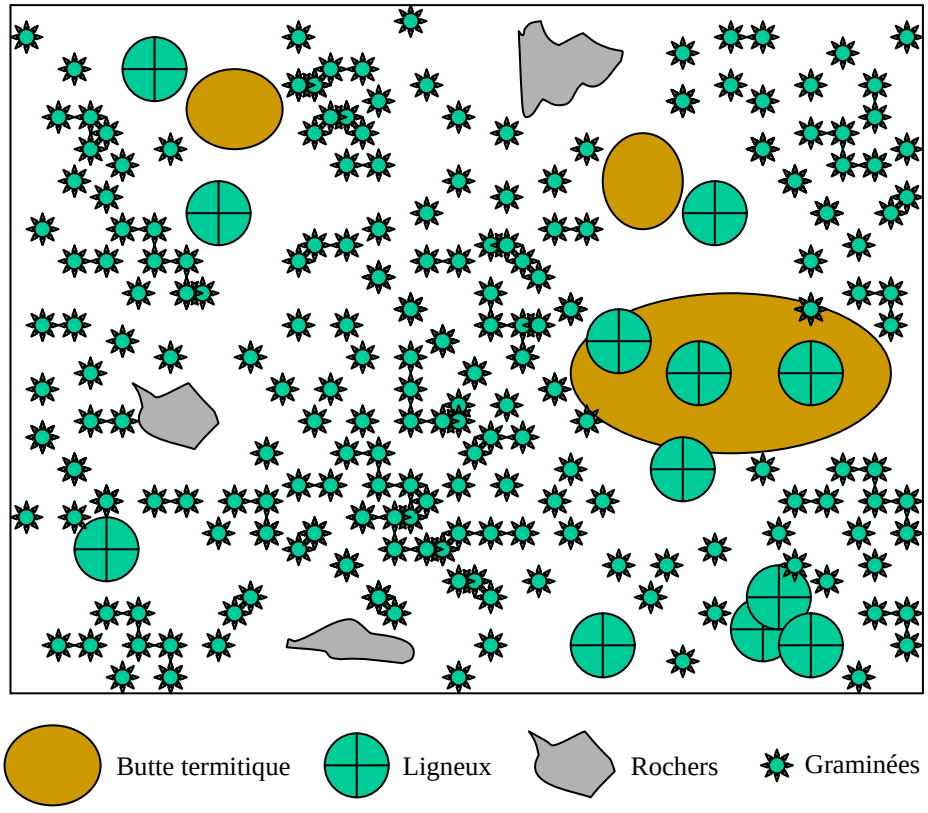


Figure II.10: Sources d'hétérogénéité dans la savane de Lamto.

Les accidents rocheux vont de quelques centimètres à plusieurs mètres (Monnier, 1968). Peu de végétation les couvre, excepté *Cyanotis rubescens*, extrêmement résistante à l'excès de sécheresse et à la submersion temporaire. Les accumulations de blocs rocheux arrêtent cependant les graines emportées par les vents, et ces pièges naturels sont particulièrement riches en espèces variées dans leur environnement immédiat.

Les ligneux ont tendance à pousser en bosquets. La faible biomasse herbacée (due à la compétition) sous leur canopée amènerait peut-être une meilleure résistance aux feux (Menaut *et al*., 1990; Gignoux *et al*., 1997), expliquant leur distribution agrégative. Les racines et les feuilles mortes de ces ligneux constituent un apport important de matière organique, et le contenu en carbone et azote, ainsi que les activités microbiennes du sol des bosquets sont supérieurs à ceux de la savane ouverte (Mordelet *et al.,* 1993; cette étude).

Les buttes d'origine termitique sont présentes dans tous les faciès de savane. Leur taille est variable: de quelque centimètres à deux mètres de haut et de 2 à 20 mètres de diamètre (Konaté, 1998). Leur formation semble due à trois espèces principales: *Odontotermes sp*., *Ancistrotermes cavithorax* et *Microtermes toumodiensis*. En remaniant le sol pour les constructions, les termites enrichissent le sol en argiles et en nutriments (Abbadie *et al.,* 1992a; Konaté, 1998). Les taux de minéralisation de la matière organique (Abbadie & Lepage, 1989) et les processus de nitrification et dénitrification (Abbadie & Lensi, 1990; cette étude) sont aussi plus intenses au niveau des buttes.

Enfin, les Graminées pérennes concentrent leurs racines à l'aplomb des touffes dans les 30 premiers centimètres, permettant un recyclage plus rapide des nutriments (Abbadie *et al.,* 1992b). Ces touffes sont séparées par de larges zones de sol nu (Photo 3 – Annexe 1), où les densités racinaires sont extrêmement faibles. Un exemple de répartition spatiale des touffes de Graminées est donnée par un échantillonnage portant sur un mètre carré dans le site

A (Figure II.11). Leur influence sur les processus microbiens du sol est détaillée dans ce travail.

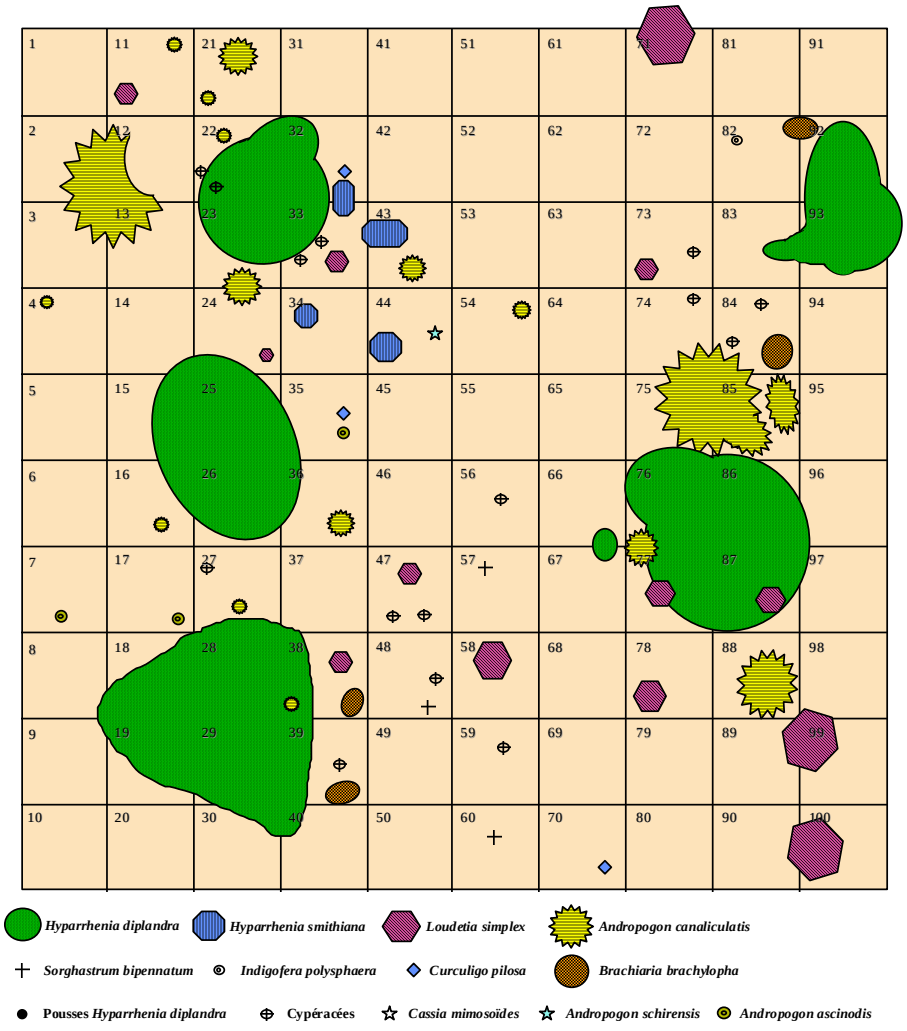


Figure II.11: Exemple de répartition spatiale des touffes de Graminées sur un mètre carré en site A.

En conclusion, ces sources d'hétérogénéité doivent être prises en compte lors de toute recherche sur l'écosystème Lamto, parce qu'elles participent activement à sa dynamique, entre autre en influençant les processus bactériens et en modifiant les caractéristiques physico-chimiques du sol, et donc la disponibilité en nutriments et en eau pour les plantes et les micro-organismes.

9. LE CYCLE DE L'AZOTE A LAMTO

Comme l'azote est considéré comme limitant à Lamto, beaucoup d'études antérieures ont été réalisées sur cette problématique. Leurs résultats permettent de se faire bonne idée de la quantification des stocks et des flux de ce nutriment dans l'écosystème, et plus particulièrement des mécanismes d'entrée, de production d'azote minéral et de pertes potentielles. Un schéma général du cycle de l'azote pour l'écosystème Lamto est donné en Figure II.12.

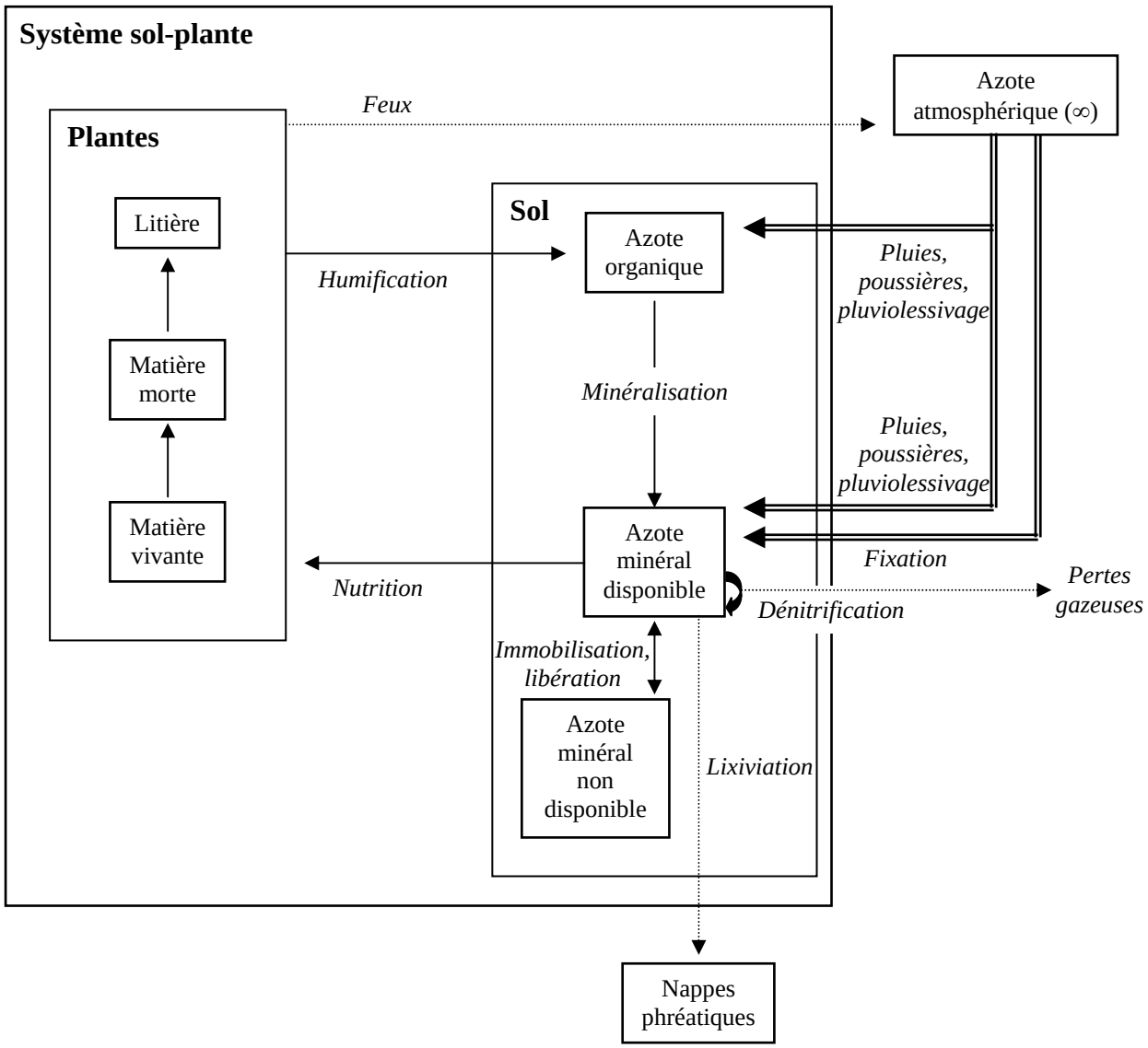


Figure II.12: Schématisation du cycle de l'azote à Lamto (d'après Abbadie, 1990). Les flèches doublées représentent les apports; les flèches pointillées représentent les pertes pour l'écosystème.

9.1 Contraintes du milieu et conservation de l'azote à Lamto

La savane de Lamto est considérée, comme beaucoup de savanes (Bate, 1981), comme un écosystème limité en nutriments bien que l'on y observe une des plus fortes productions primaires au monde en milieu tropical: ~ 40 Mg. ha^{-1}. an^{-1} (Villecourt & Roose, 1978; Menaut & César, 1979; Villecourt *et al.*, 1979). Dans cet écosystème, le rôle de l'azote est prépondérant. En effet, dans nombre de milieux tropicaux, l'azote contrôle la production primaire et est, comme à Lamto, considéré comme fortement limitant (Bate, 1981).

Plusieurs travaux antérieurs (Abbadie, 1990; Abbadie *et al.*, 1992b; Lensi *et al.*, 1992; Le Roux *et al.*, 1995) ont permis de conclure qu'il existe un aspect hautement conservatif des nutriments (et notamment de l'azote) à Lamto en réponse aux fortes contraintes du milieu sur les cycles biogéochimiques (Figure II.13).

L'humus étant dilué et formé de molécules difficilement extractibles, le substrat demeure faiblement accessible aux micro-organismes (Nacro, 1997). On observe donc une humification faible qui, ajoutée aux fortes potentialités de pertes d'azote pour l'écosystème (*via* le lessivage, le feu et l'action de certains micro-organismes comme les dénitrifiants), va orienter l'activité des micro-organismes responsables du cycle de l'azote vers des zones privilégiées, créant une nouvelle source d'hétérogénéité et une concentration des ressources.

Ainsi, la minéralisation, par exemple, se concentre préférentiellement à proximité des racines des Graminées. De ce fait, le recyclage de l'azote se déroule pendant un temps court et à une échelle fine (à l'interface racines mortes / racines vivantes / micro-organismes). Ce système est supposé amoindrir les possibilités de pertes d'azote dans le système. En effet, pour les micro-organismes nitrifiants, considérés comme de moins bons compétiteurs que les plantes vis-à-vis du substrat azoté, l'accès à la ressource azote est ainsi réduit et donc la nitrification et la dénitrification sont faibles.

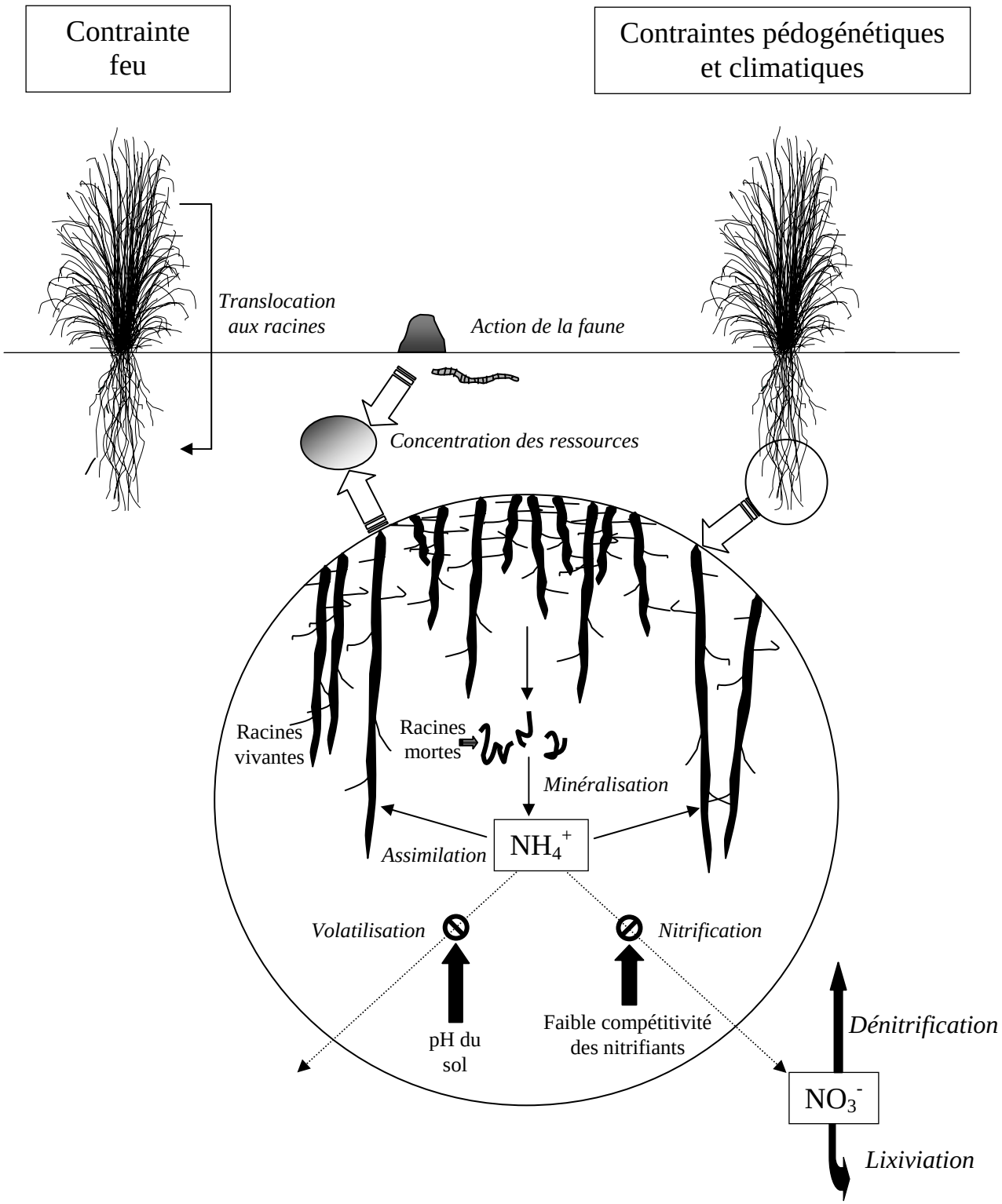


Figure II.13: Mécanismes de conservation de l'azote à Lamto.

D'autre part, la localisation préférentielle du recyclage de l'azote à proximité des racines va permettre de générer des zones de forte activité microbienne, et donc des taches de

sol enrichi en nutriments exploitables par les herbacées et les arbres. D'autres processus comme l'enrichissement en azote minéral par la faune du sol, principalement les termites ou les vers de terre, vont aussi y participer (Lensi *et al.*, 1992).

La volatilisation de l'ammonium, qui est un processus potentiel de perte d'azote, est inexistant dans les sols de Lamto, du fait de leur faible acidité (pH 5-6) (Delmas, 1967; Pochon & Bacvarov, 1973; Le Roux *et al.*, 1995; cette étude).

Enfin, les herbacées pourraient, avant le passage du feu, transférer une partie de leur biomasse (donc de l'azote) des parties aériennes vers les parties racinaires comme une réponse à la contrainte du feu (Lamotte, 1981), permettant de réduire les pertes par volatilisation (seule la biomasse aérienne étant brûlée), et ainsi de mieux redémarrer en début de saison humide.

L'organisation spatiale du cycle de l'azote à Lamto diminue donc considérablement les possibilités de perte par l'écosystème grâce à une structure et un fonctionnement hautement conservateurs. Il induit aussi une spatialisation des étapes du cycle de l'azote, ce qui autorise d'envisager l'analyse fine de ces mécanismes et leur intégration à l'étude du fonctionnement global de l'écosystème Lamto.

9.2 Entrées d'azote dans le système sol-plante

9.2.1 Apports atmosphériques

Deux types d'apports atmosphériques existent: par les poussières et par les précipitations. Les poussières atmosphériques sont porteuses de différentes formes d'azote: organique pour les poussières de taille variable, ammoniacale ou nitrique pour les particules argileuses d'une taille fluctuant autour de 2 mm. La concentration des ions NH_4^+ et NO_3^- dans l'air a été étudiée à Lamto pendant un an par Servant *et al*. (1984). Elle est très variable au cours de l'année, variant d'un facteur 16 dans le cas de l'ammonium (de 0,19 mg/m^3 air en

Août à 3,01 mg/m^3 air en Décembre) et d'un facteur 8 dans le cas du nitrate (de 0,44 mg/m^3 air en Avril à 3,36 mg/m^3 air en Décembre). Le rythme de dépôt des particules sèches étant considéré comme constant au cours de l'année, le flux d'azote transporté par les poussières qui atteignent le sol ne dépend que de la concentration de l'air en azote. A Lamto, il est élevé: à l'échelle de l'année, il est de 10 kg N-NH_4^+/ha et de 4 kg N-NO_3^-/ha (Servant *et al*., 1984).

Les apports par les précipitations dépendent à la fois de la fréquence des pluies et des brouillards, de l'intensité des pluies et de la concentration de l'azote dans l'eau. A Lamto, le flux d'azote entrant dans l'écosystème est très variable avec la saison. Il présente un maximum vers Mars-Avril de 1,2 à 1,9 kg N-NH_4^+/ha et de 0,3 à 0,8 kg N-NO_3^-/ha, et un minimum en Novembre-Décembre ou Septembre-Octobre de 0,03 à 0,17 kg N-NH_4^+/ha et de 0,02 à 0,03 kg N-NO_3^-/ha. A l'échelle de l'année, l'apport à l'écosystème est de 6,5 à 6,6 kg N-NH_4^+/ha et 1,4 à 2,4 kg N-NO_3^-/ha (Villecourt, 1975). Lamto reçoit donc annuellement par les précipitations 7,9 à 9,0 kg d'azote minéral par hectare et par an.

Une particularité de la région de Lamto est l'existence d'un flux élevé d'azote organique apporté par les précipitations. Ce flux est trois plus élevé que le flux total d'azote minéral et correspond donc à une entrée supplémentaire d'azote dans l'écosystème de 14 kg N/ha/an environ (Villecourt & Roose, 1978). **La quantité d'azote total, minéral et organique, apporté aux savanes de Lamto est donc de 22 à 23 kg N/ha/an**.

9.2.2 Fixation biologique de l'azote gazeux

L'azote moléculaire de l'air est la source principale d'azote entrant dans le système sol-plante dans la plupart des écosystèmes du monde. Différents types de micro-organismes en sont responsables: les Cyanobactéries, qui forment des croûtes à la surface du sol, les

bactéries symbiotiques des racines des plantes supérieures et les bactéries fixatrices libres que l'on trouve en densités très variables dans les sols.

La fixation par les Cyanobactéries existe à Lamto. De nombreuses croûtes algales se développent à la surface du sol entre les touffes d'herbe. On les rencontre dans tous les faciès de savane pendant la saison des pluies, mais elles sont particulièrement abondantes sur les savanes à Andropogonées moyennement boisées des plateaux, et sur les bas de pente dominés par *Loudetia simplex*. Ces croûtes renferment des Chlorophycées filamenteuses (Schaefer, 1974) et de nombreux genres de Cyanobactéries à hétérocystes. Balandreau (1976) a mis en évidence une activité nitrogénasique non négligeable au niveau de ces croûtes, permettant une capacité de fixation de l'azote de 11,8 à 21,2 g N/ha/jour. Sur la base d'une activité d'au moins trois mois pleins, on peut donc estimer que **le flux annuel d'azote entrant dans les écosystèmes de savane de Lamto est au moins de 2 kg/ha/an.**

Concernant **la fixation symbiotique**, beaucoup de légumineuses de Lamto semblent capables d'activité nitrogénasique: certaines espèces sont nodulées, comme *Indigofera polysphaera*, *Vigna sp*. ou *Cassia mimosoïdes* (Balandreau, 1975, 1976), tandis que d'autres présentent une abondance naturelle en ^{15}N typique des plantes fixatrices (Abbadie *et al.*, 1992b). Cependant, ces légumineuses ne contribuent que faiblement à la biomasse herbacée aérienne totale: entre 0,02% et 1,05% de la biomasse mensuelle moyenne selon le faciès considéré (César, 1971); d'un mois à l'autre, cette contribution varie de 0,2 à 3% (Abbadie, 1983). De plus, l'incendie annuel diminue fortement les potentialités de fixation de l'azote atmosphérique par les légumineuses par restriction du développement des racines, et par conséquent de la nodulation. **La fixation symbiotique à Lamto en année moyenne peut être considérée comme une entrée d'azote négligeable, probablement inférieure à 1 kg N/ha/an**, à la différence de ce qui est observé dans de nombreux écosystèmes terrestres, et notamment dans d'autres savanes (Bate, 1981; Kaiser, 1983).

La fixation libre non rhizosphérique dans les sols tropicaux est environ cent fois plus faible que celle engendrée par l'activité nitrogénasique des micro-organismes non symbiotiques de la rhizosphère (Balandreau, 1976). L'activité de ces micro-organismes est limitée par le manque de carbone assimilable et par la pression partielle en oxygène, suffisamment élevée notamment dans les sols sableux, pour réprimer l'enzyme nitrogénase. Le sol situé dans la zone de forte densité racinaire est au contraire un milieu très favorable aux bactéries fixatrices. Elles y disposent à la fois d'une source d'énergie abondante sous la forme des sucres issus de la photosynthèse et exsudés par les racines, et d'un environnement physique favorable en raison de l'abaissement de la pression partielle en oxygène par la respiration racinaire. L'état hydrique de la plante et l'humidité du sol semblent être deux facteurs principaux qui induisent des fluctuations saisonnières (Balandreau, 1976). La fixation d'azote gazeux par les bactéries vivant à proximité des plantes herbacées de Lamto est un phénomène très répandu et contribue de façon très significative à l'entrée d'azote dans la savane. **Balandreau (1976) estime que le flux annuel d'azote entrant dans la savane au niveau de la rhizosphère est de 13 kg N/ha dans le faciès à *Loudetia* et de 9 kg N/ha dans le faciès à *Hyparrhenia*.**

9.2.3 Pluviolessivage

En passant à travers le feuillage des herbes et des arbres, les eaux de pluie s'enrichissent en nutriments divers par lessivage de composés organiques et minéraux déposés à la surface des feuilles et par entraînement des micro-organismes de la phyllosphère. Villecourt & Roose (1978) ont calculé que **le transfert d'azote entre le feuillage des herbacées de savane et le sol est de 2 à 3 kg N/ha/an sous forme organique et 2 kg N-NH_4^+/ha/an**. Le pluviolessivage des nitrates est nul.

9.3 Sorties d'azote du système sol-plante

9.3.1 Lixiviation

Villecourt & Roose (1978) estiment que la hauteur annuelle du drainage varie de 0 à 500 mm par an, autour d'une moyenne de l'ordre de 130 mm. L'azote est presque complètement sous forme organique: la teneur moyenne des eaux de drainage en ammonium est de 0,15 mg/l et celle en nitrate de 0,05 mg/l. **Les flux correspondants sont de 5 et 0,2 kg/ha/an, respectivement pour l'azote organique et l'ammonium**; le flux d'azote nitrique est négligeable. Peu de nutriments sont donc perdus par la savane au cours du drainage des sols; si l'on compare les valeurs de flux ci-dessus aux valeurs de flux entrants liés aux précipitations, il apparaît clairement un bilan positif: les sols, ou plus exactement le système sol-plante, exerce donc une fonction de conservation des nutriments. De plus, l'absence quasi totale de nitrate, qui est en principe la forme la plus mobile de l'azote dans les sols, témoigne sans aucun doute de la faiblesse extrême du processus de nitrification dans ces savanes.

9.3.2 Dénitrification

La dénitrification est une respiration en situation d'anaérobiose: en l'absence d'oxygène, ce sont les nitrates et les oxydes dérivés qui servent d'accepteurs finaux d'électrons au cours de la phase d'oxydation des composés organiques. La dénitrification est une voie importante, fréquemment principale, de perte d'azote sous forme gazeuse. Sous savane, l'activité dénitrifiante potentielle est cependant faible à toutes les profondeurs et ce quel que soit le faciès considéré (Abbadie & Lensi, 1990; Lensi *et al.*, 1992). **Globalement, la perte d'azote par dénitrification peut être considérée comme marginale**, ce qui n'est pas étonnant compte tenu de la nature sableuse du sol qui assure une bonne diffusion de l'oxygène de l'air, de la faible biodégradabilité de la matière organique du sol, et de la faible

concentration de la solution de sol en nitrate. Il faut rappeler à ce propos que le processus de dénitrification n'est pas partout, ou pas toujours, mené à son terme N_2. Du NO ou du N_2O peuvent être également produits, comme pendant le processus de nitrification. Or, Le Roux *et al.* (1995) ont constaté que dans tous les sols de savane, le flux de NO est extrêmement faible, sauf au niveau des nids vivants de termites souterrains. Cependant, on peut observer ponctuellement des conditions plus favorables à la dénitrification, probablement par création de conditions anoxiques au niveau d'agrégats argileux générés par les animaux du sol, ou des apports de carbone assimilable par les racines, les termites ou les vers de terre, qui peuvent augmenter de manière significative le potentiel de dénitrification (Lensi *et al.*, 1992). La quantification de ces micro-flux reste une question ouverte. Enfin, en bas de pente, les sols peuvent demeurer noyés pendant quelques semaines; il n'est pas exclu que l'anoxie durable qui en résulte puisse permettre la croissance transitoire du peuplement de dénitrifiants et, par voie de conséquence, un bref pic de dénitrification (d'ampleur nécessairement limitée compte tenu de l'absence d'accumulation de nitrate dans les sols de savane).

9.3.3 Feu

L'impact du feu sur le compartiment graminéen est homogène: au cœur de la saison sèche, presque toute la biomasse aérienne est détruite, à l'exception de quelques herbes en environnement humide de bas de pente. La proportion peut en effet atteindre 100% dans certaines zones et est estimée à 85% à l'échelle de la réserve (Menaut *et al*., 1991). A ce moment, la plupart des herbes sont en fin de période de croissance et leur contenu en azote est faible et homogène. Cependant, **le flux d'azote émis vers l'atmosphère varie beaucoup entre les années, de 9 à 24 kg N/ha/an**, la plupart de l'azote étant émis sous forme N_2 (Delmas *et al*., 1995). Une partie des nutriments contenus dans la biomasse brûlée revient

cependant au système sol-plante par le dépôt des cendres. Ce dépôt pourrait avoir un effet direct sur les micro-organismes par apport de nutriments directement accessibles. Enfin, la couche de cendres induit un changement durable de l'albedo du sol (-50%) amenant une augmentation de température de 5 °C dans les cinq premiers centimètres (Monnier, 1981). Ce processus pourrait également affecter les micro-organismes, positivement par l'augmentation de température, négativement par la baisse de l'humidité.

9.4 Transformations de l'azote dans le sol

9.4.1 Le stockage de l'azote dans le sol

Comme dans la plupart des écosystèmes herbacés, y compris tempérés (Woodmansee *et al*., 1978), la plus grande partie de l'azote du système sol-plante de la savane de Lamto est contenue dans le sol, soit 98 % environ du total. Cet azote est exclusivement sous forme organique, la teneur des sols en ammonium et en nitrate étant constamment inférieure à 1-2 µg N/g sol. En raison de leur texture sableuse, la capacité d'accumulation de composés organiques par les sols de Lamto est faible: **leur teneur en azote dans les dix premiers centimètres n'excède pas 0,056% en savanes à *Hyparrhenia* de haut de pente et 0,044% en savane à *Loudetia simplex* de bas de pente** étudiées par Abbadie (1988). Bien entendu, ces valeurs diminuent rapidement avec la profondeur, pour atteindre respectivement 0,037% et 0,026% entre -30 et -50 cm. Ces résultats sont transposables à l'ensemble des situations présentes à Lamto, sauf dans des zones de sous-sol amphibolitique qui donnent naissance à des terres noires et où la teneur en azote peut monter à 0,081% en surface et 0,058% en profondeur. La quantité totale d'azote organique stockée dans ces sols est faible et n'excède généralement pas 2800 kg/ha. On n'observe que de faibles variations du stock d'azote organique avec la saison, liées sans aucun doute aux variations de densité racinaire, de biomasse microbienne et d'abondance de la pédofaune (Abbadie, 1988). L'azote contenu dans

les résidus végétaux incomplètement décomposés (de densité inférieure à 2) ne représente que 4 à 15% du stock total; cette part est plus forte dans le sol sous *Loudetia* que dans le sol sous *Hyparrhenia*.

9.4.2 Ammonification et nitrification

De Rham (1971, 1973) a mesuré pendant deux ans la production d'ammonium et de nitrate dans différents sols, entre autres les savanes à *Hyparrhenia diplandra* et à *Loudetia simplex*. Les accumulations d'azote minéral *in situ* en savane brûlée se sont révélées extrêmement faibles (inférieures à 1 mg N/g de sol sec), aux limites de détection de l'appareillage. La présence de traces d'ammonium semble plus régulière que pour le nitrate. En savane non brûlée, les mesures sont équivalentes, excepté une proportion plus importante de nitrate. De Rham (1973) a suggéré que l'accumulation de litière puisse causer ce phénomène. Des mesures plus récentes en conditions contrôlées en laboratoire (Abbadie & Lensi, 1990) ont confirmé que les potentiels de minéralisation et de nitrification étaient extrêmement faibles. Cependant, une certaine hétérogénéité a été observée: la minéralisation est supérieure sous les bosquets d'arbres (Mordelet *et al.*, 1993), et augmente sous l'action de la faune du sol et des racines (Abbadie & Lensi, 1990). La nitrification est supérieure sous couvert à *Loudetia* plutôt que sous *Hyparrhenia*, et est inférieure sous les touffes d'*H. diplandra* en comparaison aux prélèvements hors touffe (Lensi *et al.*, 1992). C'est à partir de cette constatation qu'a été posée l'hypothèse d'une inhibition de la nitrification par les touffes de Graminées, comme suggéré par Meiklejohn (1962, 1968), Munro (1966 a, b) et Rice & Pancholy (1973).

De Rham (1973) a estimé la production annuelle d'azote minéral à 2-5 kg N/ha/an. Cette production ne peut suffire aux besoins des Graminées (80 kg N/ha/an pour la savane à *H. diplandra*).

9.5 Stocks et dynamique de l'azote dans la végétation

Les herbacées ne contiennent donc qu'une faible partie (1,9%) de l'azote stocké dans l'écosystème (Abbadie, 1990). **Au maximum, les feuilles et tiges vivantes contiennent 20 kg N/ha/an, les parties mortes 15 kg N/ha/an, et la phytomasse hypogée 17 kg N/ha/an (dont 57% dans les dix premiers centimètres). La quantité d'azote transitant par les racines et allouée aux parties aériennes est estimée à 39 kg N/ha/an. La quantité d'azote prélevée dans le sol et allouée aux racines est de 38 kg N/ha/an. Le flux total d'azote entre le sol et l'ensemble de la strate herbacée est donc estimé à un minimum de 77 kg N/ha/an (Abbadie, 1990).**

A cause de la faiblesse de la production d'azote minéral dans les sols, les Graminées doivent nécessairement exploiter d'autres sources. La minéralisation de la matière organique des sols profonds ne semble pas une hypothèse valide, en regard de la faiblesse des potentiels (manque d'oxygène) et de la faible densité racinaire au-delà de 30 centimètres de profondeur (Le Provost, 1993). Les apports atmosphériques et la fixation non symbiotique dans la rhizosphère doivent être exploités mais ne sont pas suffisants. Abbadie *et al.(*1992b) ont montré à partir de mesures isotopiques (rapport $^{15}N/^{14}N$) que l'azote des Graminées provient essentiellement de la décomposition des racines mortes dans la rhizosphère. **Ce recyclage court permettrait un apport de 40 kg N/ha/an, soit 50% du besoin des plantes.**

HYPARRHENIA DIPLANDRA

Hyparrhenia diplandra est une Graminée pérenne présente dans les savanes de Lamto, et fortement dominante dans les faciès où nous avons travaillé. Elle a de surcroît été citée dans des travaux traitant d'une possible inhibition de la nitrification par les Graminées (Meiklejohn, 1962, 1968; Boughey *et al*., 1964; Munro, 1966a, b; Purchase, 1974). De ce fait, elle s'est trouvée au centre de ce travail. Nous présentons ici la position systématique et les principales caractéristiques de cette espèce (Clayton, 1969, 1986).

1. SYSTEMATIQUE ET EVOLUTION

Hyparrhenia diplandra (Hack) Stapf appartient à la sous-famille des Panicoïdées, à la supertribu des Andropogonées, à la tribu des Andropogoninées (Figure II.14), et au genre *Hyparrhenia*. *Hyparrhenia* tire son nom du grec *hypo* (sous) et *arrhen* (mâle), allusion à la présence de spicules à la base des racèmes seulement présents chez les fleurs mâles.

1.1 Les Graminées (Poacées)

Avec 750 genres et 10000 espèces, les Graminées représentent, après les Orchidées, la seconde famille la plus riche en espèces des Monocotylédones (Mathez, 1993). Cette famille est subdivisée en cinq sous-familles selon la structure des fleurs et des épillets, et l'anatomie des limbes foliaires (Watson *et al.*, 1985): les Arundinoïdées, les Bambusoïdées (contenant les supertribus *Bambusanae* et *Orizanae*), les Chloridoïdées, les Panicoïdées (contenant les *Paniceae*) et les Pooïdées (contenant les supertribus *Triticaneae* et *Poaneae*). La majorité des

céréales et fourrages appartiennent aux Graminées. Ainsi, le riz fait partie des *Orizanae*, le blé des *Triticaneae*, le mil et le millet des *Paniceae*, le sorgho et le maïs des *Andropogoneae*.

Les Graminées, apparues à la fin du Crétacé, constituent une famille monophylétique. Elles ont joué un rôle de premier plan dans l'évolution d'écosystèmes comme la savane, et dans une co-adaptation diffuse avec des vertébrés comme les oiseaux granivores, les chevaux et les bovidés (Stebbins, 1986; Retallack, 1992). Le tallage et les rhizomes seraient une adaptation au piétinement, les méristèmes intercalaires assurant la repousse après le pâturage, et la silicification des cellules épidermiques donnant une résistance face aux insectes phytophages. Les Graminées sont, depuis leur apparition, anémogames (pollinisation par le vent), mode favorisé par la condensation des inflorescences (Stebbins, 1986). La photosynthèse en C_4 constitue, quant à elle, une adaptation à un climat chaud et sec. Enfin, la différenciation des sous-familles s'est produite en savane. Cette évolution s'est faite par séries de cycles d'hybridation, de polyploïdisation et d'apparition de nouvelles espèces par addition de génomes, entraînant une fréquence élevée de la polyploïdie (DeWet, 1986).

1.2 Les Andropogonées

Les Andropogonées constituent une supertribu bien définie, monophylétique comprenant environ 85 genres et 960 espèces (Clayton, 1986). Elles font partie de la sous-famille des Panicoïdées, l'autre supertribu étant celle des Panicées. Andropogonées et Panicées sont phylogénétiquement distinctes mais très proches et relativement évoluées. Les inflorescences sont complexes et le fruit très protégé. La tribu des Andropogoninées est détaillée en Figure II.14, mais il faut savoir que la délimitation des tribus et des genres est encore floue.

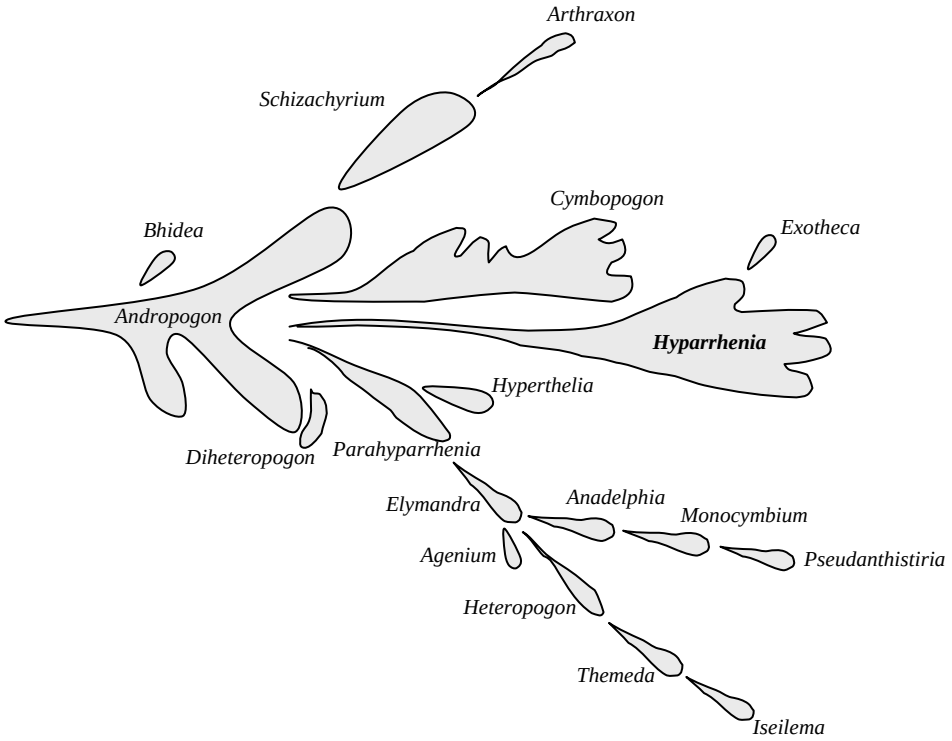


Figure II.14: La tribu des Andropogoninées (d'après Clayton & Renvoize, 1986).

1.3 Le genre Hyparrhenia

Le genre *Hyparrhenia* a été confondu jusqu'en 1855 avec le genre *Andropogon*, dont il serait en réalité issu. Les plantes sont annuelles, ou pérennes en touffes. Le genre comprend 55 espèces (Clayton, 1969), principalement africaines, et typiques des savanes, et est connu pour l'introgression entre espèces, certaines étant difficiles à distinguer. *Hyparrhenia diplandra*, présente dans toutes les savanes d'Afrique tropicale, est également mentionnée en Indonésie, Thaïlande et Vietnam. *Hyparrhenia rufa* a été souvent introduite comme fourrage, entre autres en Amérique du Sud et Centrale (Daubenmire, 1972; Baruch *et al.*, 1985; San José & Fariñas, 1991; Baruch & Fernández, 1993) et est devenu fortement invasive par rapport aux espèces locales.

2. PRINCIPALES CARACTERISTIQUES D'*H. DIPLANDRA*



Fig. 455.—HYPARRHENIA RUFA *Stapf* (GRAMINEAE-ANDROPOGONEAE).
A, ligule. B and C, pair of spikelets. B_1, internode of raceme. B_2, C_1, pedicel of pedicelled spikelet. B_3, C_3, sessile spikelet from back and front respectively. B_4, C_2, pedicelled spikelet.

Figure II.15: Exemple de morphologie chez les *Hyparrhenia* (*H. rufa*) (d'après Hutchinson & Dalziel, 1972).

2.1 Morphologie

2.1.1 Appareil végétatif

Un exemple de morphologie chez les *Hyparrhenia* est donné pour *H. rufa* (proche d'*H. diplandra*) en Figure II.15 et pour *H. diplandra* en Photos 4 et 5 (Annexe 1). Les feuilles sont de type Monocotylédone (Clayton, 1969), engainantes, avec ligule (prolongement de la gaine) et oreillettes (prolongement du limbe). La phyllotaxie est alterne distique. Les tiges sont creuses avec un diaphragme plein au niveau des nœuds.

Le tallage est très répandu, avec formation, à partir de bourgeons axillaires, de ramifications à la base des tiges au contact du sol. Les ramifications restent parallèles à la tige principale, ce qui donne des touffes compactes (Graminée cespiteuse). La touffe grandit en diamètre et se fragmente par la mort des parties les plus vieilles. Les racines adventives partent des nœuds inférieurs en perçant le bas des gaines foliaires (Clayton, 1969).

2.1.2 Appareil reproducteur

La fleur est petite et discrète, enfermée dans deux pièces membraneuses, les glumes. L'équivalent des pétales est représenté par les glumellules, très petites. Les fleurs sont soit hermaphrodites, soit unisexuées par avortement des pièces femelles. La fleur présente trois étamines sortant de la fleur à maturité et un ovaire ne contenant qu'un seul ovule et portant deux styles plumeux (Jacques-Félix, 1962).

Les fleurs regroupées au sein des glumes forment un épillet. Les épillets ne contiennent qu'une fleur chacun et sont associés par paire: un des épillet est sessile et l'autre

est pédonculé. L'épillet sessile contient une fleur bisexuée, dont la glumellule porte une longue arête coudée. L'épillet pédonculé est, quant à lui, seulement mâle. Enfin, les épillets sont alignés le long de rameaux fins: les racèmes. Ces derniers sont courts, courbes à maturité et placés par paires à l'aisselle d'une spathéole (petite feuille modifiée). Ces paires de racèmes sont rassemblées en une panicule (inflorescence) composée très branchue (Jacques-Félix, 1962).

Le fruit est un caryopse qui n'est pas dispersé seul, mais avec des restes d'inflorescence. L'embryon est situé sur le côté d'un albumen amylacé, avec des protéines de réserve (gluten) vers la périphérie. La diaspore est constituée de l'entre-nœud, de l'épillet sessile contenant le caryopse et portant la longue arête, et du pédicelle. L'épillet pédicellé tombant à part, la diaspore contient donc une seule graine (Jacques-Félix, 1962). Les graines sont dispersées principalement par le vent, mais une dissémination par les rongeurs et les fourmis ne peut être écartée.

2.2 Ecologie d'H. diplandra à Lamto

2.2.1 Biomasse

Les *H. diplandra* sont pérennes, organisées en touffes aux tiges serrées (Photo 6 – Annexe 1) pouvant atteindre deux mètres de hauteur en fin de végétation (Menaut & César, 1979). La biomasse aérienne est complètement brûlée par le feu (hémicryptophytes). Les bourgeons au niveau du sol sont protégés du feu par les bases des tiges et les gaines des feuilles. Une grande partie de la biomasse est souterraine, directement à l'aplomb de la touffe et à 80% dans les premiers trente centimètres du sol (Le Provost, 1993).

2.2.2 Phénologie

Le cycle végétatif d'*H. diplandra* à Lamto est contrôlé par la saison sèche. La végétation sèche vers les mois de Décembre et Janvier, et le feu déclenché artificiellement dans la réserve vers la mi-Janvier consomme la biomasse herbacée épigée très rapidement. La végétation redémarre environ une semaine après le feu. La floraison d'*H. diplandra* est tardive (Septembre-Novembre), ce qui lui permet de former une biomasse importante. La dispersion est très faible, au plus un mètre, et les graines expriment une dormance de 4 mois maximum (Garnier, comm. pers.).

2.2.3 Répartition spatiale

Les Andropogonées sont omniprésentes à Lamto et responsables de 80% de la production primaire. *H. diplandra* domine plusieurs faciès de savane et constitue par exemple 80% de la couverture basale totale dans nos sites. Ces faciès à *H. diplandra* couvrent 55% de la réserve (Gautier, 1990b). Au niveau du sol, on observe une mosaïque irrégulière alternant sol nu et touffes (Photo 7 – Annexe 1). Ces dernières occupent au maximum 30% de la surface au sol, mais forment en fin de croissance une couche continue à 40 cm du sol. Le peu de place libre ne permet la présence que de quelques annuelles à Lamto.

La plupart des touffes sont monospécifiques, mais on peut rencontrer des touffes mixtes (Le Provost, 1993). L'âge maximal des touffes n'est pas connu, mais il pourrait être de plusieurs décennies (Garnier, comm. pers.). La répartition spatiale est en agrégats d'agrégats, et *H. diplandra* est souvent associée à *H. smithiana* et *Andropogon canaliculatus*.

2.3 Génétique

Pour le genre *Hyparrhenia*, le nombre de base des chromosomes est x=10 (donc 2n=20), mais il y a de nombreuses espèces polyploïdes. Puisqu'*H. diplandra* possède 40 chromosomes (Kummacher *et al*., 1973; Dujardin, 1979), elle est tétraploïde.

Peu d'informations sur la génétique d'*H. diplandra* sont pour l'instant disponibles. Cependant, puisque la grande majorité de la reproduction est apomictique avec seulement un faible pourcentage de reproduction sexuée (Durand, comm. pers.), la progéniture d'une plante peut être considérée comme un clone.

«The overall significance and importance of nitrification in the plant-soil system are subject to great debate among scientists because it has both beneficial and detrimental effects on the soil and wider environment»

R.J. Haynes, 1986

CHAPITRE III: Coexistence stable de systèmes exprimant des statuts de nitrification contrastés dans une savane tropicale humide

INTRODUCTION AU CHAPITRE III

Ce chapitre traite des premières étapes que nous jugions indispensables pour poser les jalons nécessaires aux futurs travaux. La Figure III.1 résume les différents objectifs abordés dans cette première étude.

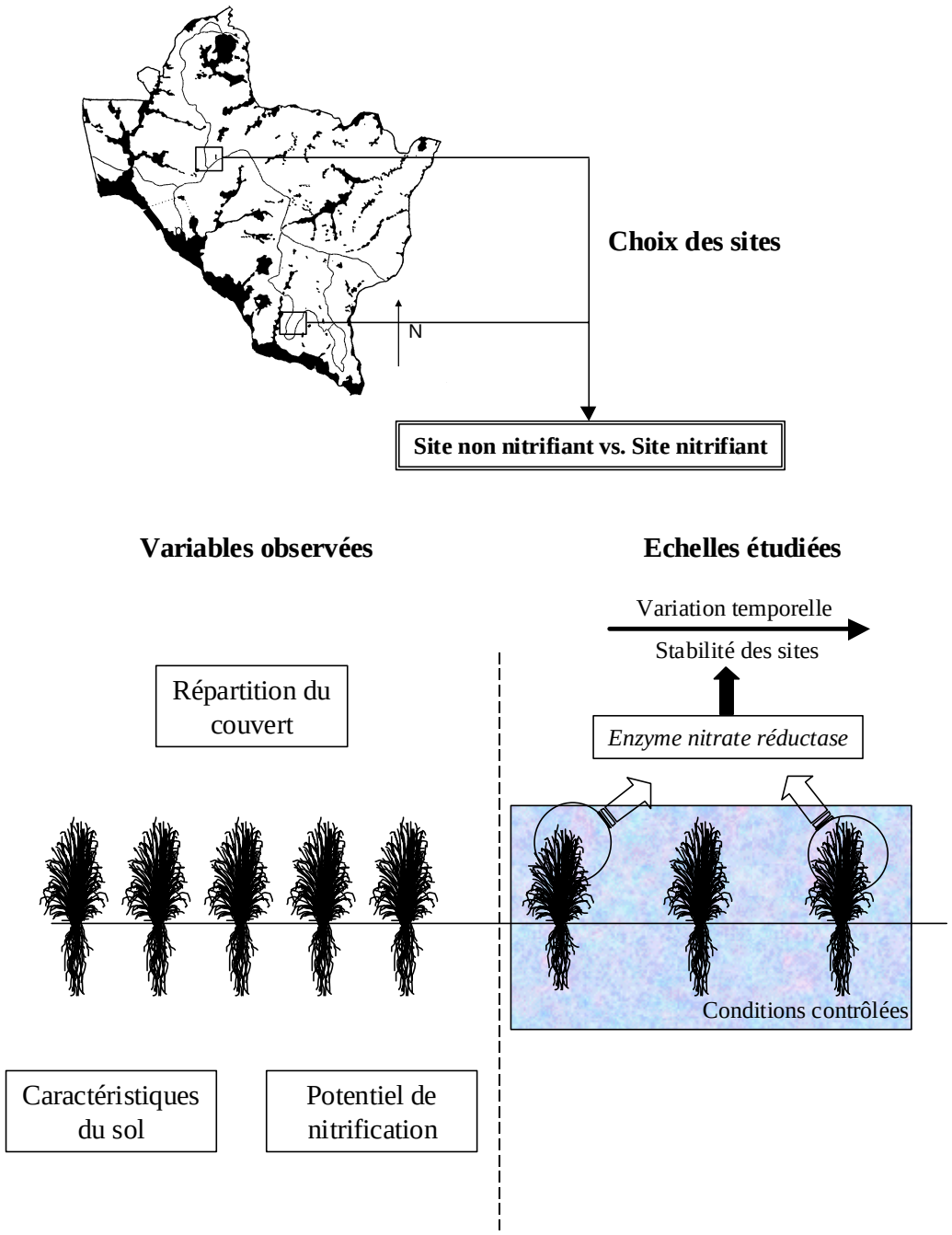


Figure III.1: Eléments abordés dans ce chapitre III.

Ces éléments sont: (i) le choix des sites d'étude; (ii) la caractérisation des deux sites du point de vue des caractéristiques physico-chimiques du sol, et de la répartition des espèces de Graminées; (iii) la caractérisation du potentiel de nitrification des deux sites (valeur moyenne et variance); et (iv) discuter l'hypothèse sous-jacente de la stabilité dans le temps du potentiel de nitrification des deux types de sites.

1. CHOIX DES SITES D'ETUDE

L'emplacement des sites dans la station de Lamto est indiqué dans la Figure III.2.

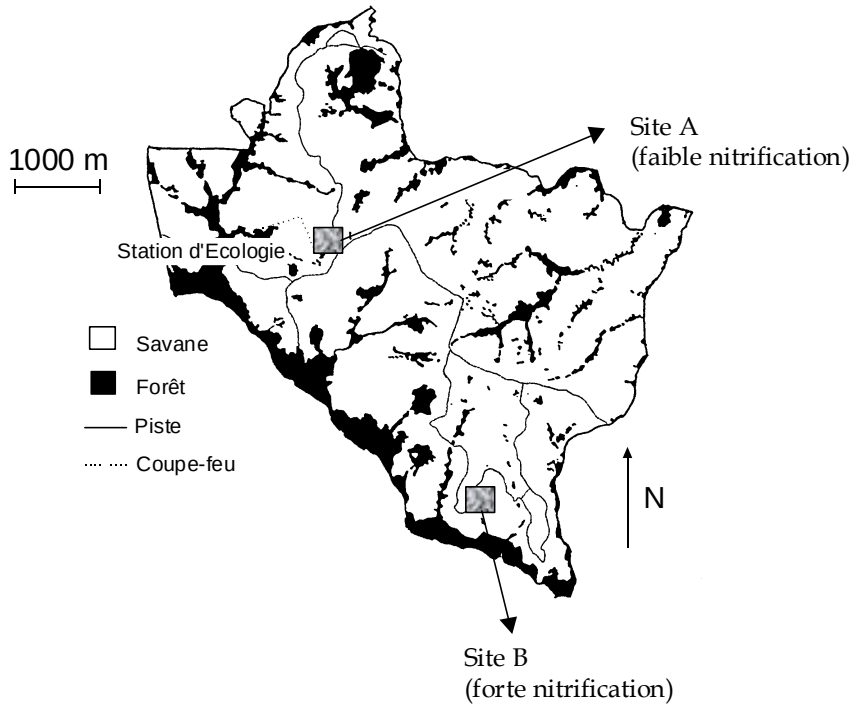


Figure III.2: Localisation des deux sites d'étude (sites A et B) dans la station de Lamto.

Les deux sites d'études sont espacés approximativement de 5 km et leur surface est de 2,5 ha chacun. Sachant que le site nitrifiant (B) était celui découvert par Le Roux *et al.* (1995), nous avons tout d'abord procédé à des prélèvements de sol le long de transects afin de

définir ses limites. Dans les 2,5 ha, le potentiel de nitrification est toujours resté élevé, et donc les expériences se sont déroulées dans ces limites connues. Le site à faible nitrification (A) a été choisi parce qu'il avait déjà été étudié auparavant (Abbadie *et al.,* 1992b; Lensi *et al.,* 1992; Le Roux *et al.* 1995). De plus, les deux sites ne semblaient pas différer visuellement en ce qui concerne la couverture végétale, la pente, l'aspect des sols et le climat.

2. CARACTERISATION DES SOLS ET DE LA REPARTITION DES ESPECES VEGETALES

Afin de mieux comparer les deux sites, nous avons étudié les principales caractéristiques du sol à la profondeur de 0-10 cm. En effet, c'est à cette profondeur que les activités microbiennes, dont la nitrification, sont à leurs maxima (Pochon & Bacvarov, 1973; Lensi *et al.*, 1992; Nacro, 1997).

De plus, nous avons étudié la composition spécifique du couvert graminéen pour voir quelle était l'espèce dominante, et si cette composition était identique entre les deux sites.

3. CARACTERISATION DU POTENTIEL DE NITRIFICATION

Les potentiels de nitrification ont été étudiés grâce à un grand nombre d'échantillons prélevés au hasard afin d'obtenir une caractérisation de chacun des sites, et de comparer à la fois les valeurs moyennes et les variances associées à ces mesures.

4. STABILITE DES DEUX TYPES DE SITES

L'étude de la stabilité des deux sites est importante. En effet, si les différences de potentiel de nitrification observées entre les deux sites ne perduraient pas, l'hypothèse d'une action des Graminées sur la nitrification serait plus difficile à soutenir. Afin d'éviter la mise en place d'un suivi pluriannuel, coûteux en temps et de surcroît difficile à mettre en place, nous avons cherché à étudier le degré d'adaptation d'*H. diplandra* aux deux modes de nutrition azotée (présence ou absence de nitrate) associée aux deux cycles de l'azote du sol (présence ou absence de nitrification). Nous avons pour cela suivi en conditions contrôlées les deux sous-populations d'*H. diplandra*, et leur potentiel d'expression de l'enzyme nitrate réductase, enzyme intracellulaire transformant le nitrate en ammonium dans la plante. L'hypothèse est que, si les différences dans le cycle de l'azote des deux sites sont stables, les plantes devraient y être adaptées et exprimer un potentiel enzymatique de réduction des nitrates différent.

Stable coexistence of contrasted nitrification statuses in a wet tropical savanna ecosystem

J.C. LATA,*° J. DURAND,* R. LENSI † and L. ABBADIE*

**Ecole Normale Supérieure, Laboratoire d'Ecologie, UMR 7625 UPMC ENS CNRS, 46 rue d'Ulm, 75230 Paris Cedex 05, France, and †Laboratoire d'Ecologie Microbienne, UMR CNRS 5557, Université Claude Bernard Lyon I, 69622 Villeurbanne Cedex, France*

°Author for correspondence (lata@biologie.ens.fr).

Short title: Contrasted nitrification statuses coexist in savanna

Summary

1. Wet tropical savannas are characterised by strong environmental constraints - particularly low soil nutrient availability - associated with high plant productivity. Nitrogen recycling, and especially nitrification, is supposed to be a strong determinant of the balance between conservation and loss of nutrients at the ecosystem level. Savanna facies dominated by the grass *Hyparrhenia diplandra* (Andropogoneae) are known to exhibit low levels of nitrification and thus avoid nitrate losses.

2. By comparing two sites in the Lamto area (Côte d'Ivoire, West Africa) with similar soil physico-chemical characteristics and equally dominated by *H. diplandra* (80% of the grass cover), it was demonstrated that, within this facies, nitrification is highly heterogeneous, with a 240 fold variation in potential nitrification within a specific site.

3. In order to test whether these differences can be considered as permanent in this ecosystem, nitrate reductase activities were compared on *H. diplandra* plantlets from the two sites, cultivated under identical conditions in the presence of nitrate. The leaves of plants originating from the high nitrification site were always able to reduce nitrate at a significantly higher rate than those from the low nitrification site. This observation indicates a long-term adaptation of the plants and stable nitrification behaviour.

4. Lamto can thus be considered as a contrasted dual ecosystem relative to its nitrogen cycle. The two sites studied therefore constitute useful models to assess the determinism of nitrification in wet savannas and the role of this process on nitrogen retention in such ecosystems.

Key-words: Andropogoneae, *Hyparrhenia diplandra*, Lamto, nitrate reductase activity, soil nitrogen cycle

Introduction

Nitrification, the bacterial oxidation of ammonium into nitrate, is known to be highly variable in time and space in various soils, including tropical soils (Lodhi 1977; Schimel & Parton 1986; Wedin & Tilman 1990; Lensi *et al.* 1991; Zak & Grigal 1991; Ross, Luizão & Luizão 1992; Davidson & Hackler 1994; De Boer, Klein Gunnewiek & Parkinson 1996). Lack of nitrification is generally linked to low nutrient availability and is supposed to improve nitrogen conservation by suppressing denitrification and limiting mineral nitrogen leaching (Huber *et al.* 1977; Jordan, Todd & Escalante 1979; Vitousek *et al.* 1979; Keeney 1986; Robertson 1989). Wet tropical savanna soils are typical examples of ecosystems characterized by low nutrient availability and low nitrification capacities. Paradoxically, some of them can support high plant productivity, which suggests efficient and conservative nutrient dynamics (Hopkins 1966; Egunjobi 1974; Menaut & César 1979; Abbadie, Mariotti & Menaut 1992).

The Lamto area, Côte d'Ivoire, West Africa, is representative of wet savanna ecosystems where nitrogen has been shown to be the major factor limiting primary production (Bate 1981). Previous studies have suggested that the potential of nitrification in this area was related to the specific composition of the plant cover (Lensi, Domenach & Abbadie 1992). In Lamto, the grass cover is generally dominated by two perennial tufted Graminaceae (Poaceae) species, either *Loudetia simplex* or *Hyparrhenia diplandra* (Menaut & César 1979). The soils from the sites dominated by *L. simplex* exhibit a substantial potential of nitrification while those dominated by *H. diplandra* generally exhibit extremely low potential of nitrification (Lensi, Domenach & Abbadie 1992). Within the *H. diplandra*-dominated sites, the potential of nitrification was even significantly lower under than between the *H. diplandra* tussocks. These results may be

compared with previous data from Munro (1966a, b), Meiklejohn (1962, 1968) and Rice & Pancholy (1973) showing a depressive effect of many grasses on the activity of nitrifiers, especially those belonging to the Andropogoneae group. Recently, the general character of this depressive effect was questioned by Le Roux *et al.* (1995) who fortuitously discovered a site dominated by *H. diplandra* exhibiting high rates of nitrate accumulation in soil.

The aim of the present work was to answer the two following questions: (1) does the potential of nitrification significantly differ between the site reported by Le Roux *et al.* (1995) and a standard area where nitrification rate is known to be extremely low; (2) are these differences stable over time? To answer the first question, the average and variance of the potential of nitrification were compared between the two model sites. A potential nitrification assay was used in order to evaluate the long-term ability of microorganisms to oxidise ammonium. It was assumed that the potential activity is not affected by short-term environmental variations. To answer the second question, two sets of *H. diplandra* grown from seeds sampled in the two sites were cultivated in greenhouse under identical conditions (in particular with non-limiting nitrate supplies). The potential nitrate reductase activity (NRA) was measured in roots and leaves hypothesizing that a difference of plant ability to reduce nitrate should result from a permanent difference in nitrate availability between the soils from the two sites.

Materials and methods

SITE DESCRIPTION

Lamto is located in Côte d'Ivoire at latitude 6 ° 13 'N and longitude 5 ° 20 'W, at the southern limit of the 'V Baoulé', a broad grass expanse of savannas which spreads southwards far into the rain forest. The vegetation varies with the topography and five facies, from downslope to upslope, can be distinguished by tree density and the main grass species (Devineau 1976; Menaut & César 1979): a riparian forest along the Bandama river; gallery forests in the thalwegs; herbaceous savannas, without trees other than the palm *Borassus aethiopum*, dominated by the grasses *Loudetia simplex* and *Andropogon schirensis*; shrub savannas dominated by the grasses *Hyparrhenia diplandra* and *Hyparrhenia smithiana*; and dry semi-deciduous forests on the plateaux.

Temperatures are constant throughout the year (average 27 °C). Rainfall is variable and four seasons can be distinguished: the long dry season from December to February, the long wet season from March to July, the short dry season in August and the short wet season from September to November. Precipitation averages 1200 mm (statistics from Geophysical Station of Lamto). Granites and derived sands have produced tropical ferrugineous soils with a superficial gravely horizon with pH values around 6.

All the experiments were conducted during the long wet season (March-April 1995) in the shrub savannas, the dominant biotope covering almost 55% of the reserve (Gautier 1990b).

SOILS STUDIED

Soils were sampled in two savanna sites (5 km apart, more than 2.5 ha each), both dominated by *H. diplandra* (80% of the plant cover, no significant difference at $P<0,05$, $n=8$, Student's Test): the reference site A, where the potential of nitrification has been shown to be low in previous studies (Abbadie, Mariotti & Menaut 1992; Lensi, Domenach & Abbadie 1992; Le Roux *et al.* 1995) and site B, where a high potential of nitrification has been reported (Le Roux *et al.* 1995). At each site, 60 soil samples were randomly collected between the tussocks of *H. diplandra* from the uppermost layer (0-10 cm depth). The samples were immediately air-dried in the shade, homogenized, sieved (2 mm) and stored until required for the experiments.

PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF SOILS

Soils were analysed for several physico-chemical characteristics: (1) size-class distribution of soil particles was estimated according to Feller *et al.* (1991); (2) pH was measured following the pH-KCl technique; (3) total organic C and N were determined, after crumbling up soils into a very fine powder, with an elemental analyser (NA 1500 Series 2, Fisons); results were expressed as ‰ C or N of dry soil weight; (4) bulk density of the zero to 5 cm soil layer was measured at five locations in each site using 171 cm^3 steel cylinders. All measurements on single samples were repeated at least three times.

ENZYMATIC POTENTIAL OF NITRIFICATION ASSAYS

The enzymatic potential of nitrification was measured according to Lensi *et al.* (1986): the NO_3^- produced during an aerobic incubation was deduced from N_2O measurements after an anaerobic incubation in the presence of C_2H_2.

From each soil sample, 15 g subsamples (n=6) were placed in 150 cm^3 plasma flasks. Three subsamples were used to estimate the initial NO_3^- content: they were supplied with 6 cm^3 of a suspension of a denitrifying organism (*Pseudomonas fluorescens*, $O.D._{580}$ = 2) in a solution containing glucose and glutamic acid (final soil C content for each compound: 0.5 mg C g^{-1} dry soil). This procedure ensures high denitrifying potential and electron donors in excess. The flasks were sealed with rubber stoppers and the atmosphere of each flask was replaced by an He-C_2H_2 mixture (90-10) to ensure anaerobic conditions and N_2O-reductase inhibition. The N_2O accumulation was followed until a constant value (i.e. a total conversion of soil NO_3^- content into N_2O) was reached.

The three other subsamples were used to determine the kinetics of NO_3^- accumulation: they were enriched with 2 cm^3 of a $(NH_4)_2SO_4$ solution (final soil N content: 0.2 mg g^{-1} dry soil) in order to ensure a moisture content equivalent to 80% W.H.C. and no limitation by ammonium (presence of NH_4^+ was also supposed to limit NO_3^- assimilation by micro-organisms). Then, the flasks were sealed with Parafilm©

(which prevents soil from drying but allows gas exchange) and incubated at 27 °C for 48 h in a horizontal position to ensure optimal and homogeneous aeration of the soil. After this aerobic incubation which allows nitrate to accumulate, the soil samples were enriched with 4 cm^3 of a *P. fluorescens* suspension ($O.D._{580}$ = 2) in a solution containing glucose and glutamic acid (in concentrations adequate to achieve the same final soil C content as above). Then anaerobiosis and N_2O inhibition were obtained in the flasks as described above and the N_2O accumulation was followed until a constant value was reached. We ascertained that neither nitrate nor nitrite remained in the *Pseudomonas* suspensions before they were added to the soil: (1) by colorimetry procedure using Morgan's and Griess Ilosway's reagents, and (2) by anaerobic incubation of suspension aliquots (with carbon and C_2H_2 supplies) in order to verify that no N_2O was produced.

N_2O was analysed on a gas chromatograph equipped with an electron capture detector. Previous studies (Abbadie & Lensi 1990; Lensi, Domenach & Abbadie 1992) have demonstrated that the nitrifying potential of different soils was not affected by drying and storage.

The enzymatic potential of nitrification was computed by subtracting the nitrate initially present in the soil from the nitrate accumulated after aerobic incubation and expressed as µg NO_3^--N produced 48 h^{-1} g^{-1} dry soil.

ASSAY OF ASSIMILATORY NITRATE REDUCTASE ACTIVITY (NRA) ON FRESH TISSUES OF *HYPARRHENIA DIPLANDRA*

In each site, inflorescences of 15 randomly distributed tussocks were wrapped in bags in October 1994, and the seeds produced by selfing were collected in December 1994. After germination, two to four plantlets from each initial tussock were cultivated in a greenhouse on standard compost (solid base: loam; sand: 50 litre m^{-3}; pH (H_2O): 6.0-6.3; PG-Mix^{TM} 12.14.24 NPK fertiliser (Hydro Agri): 1.5 kg m^{-3}), fertilized with NO_3^- and NH_4^+ under the following conditions: 12 h light, 12 h dark; 28 °C; 50% air water vapour saturation deficit; water was regularly supplied in order to maintain water holding capacity.

On days 30, 45, 60, 90 and 180 after the onset of culture, two to five pieces (20-50 mg fresh material each) from five different young leaves sampled from each plantlet were shaken for 5 h in the following induction medium: KNO_3, 20 mM; $CaCl_2$, 1.5 mM; $MgSO_4$, 0.75 mM; KH_2PO_4, 0.625 mM.

In vivo NRA was assayed according to Hageman & Reed (1980): leaf samples were incubated in 2 cm^3 of the same medium (supplied with 2% isopropanol) at 30 °C under nitrogen flow in the dark. The reaction was stopped after 15 and 30 min of incubation by transferring the tube into boiling water for 5 min. The nitrite liberated in the medium was assayed by adding 500 µl of a 2% sulphanilamide solution in 3N HCl and 500 µl of N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride at a 0.04% concentration, and measuring the optical density at 540 nm. The nitrate reductase activity (NO_2^- produced at t=30 min minus NO_2^- produced at t=15 min) was expressed as µmoles NO_3^- reduced g^{-1} plant matter $hour^{-1}$. As no significant differences in NRA between different parts of a single leaf and between leaves of a same plantlet were recorded, all the measurements performed on each plantlet were averaged.

The NRA was also measured in roots following the same procedure (10 20-50 mg root samples proceeding from 10 different plantlets were assayed per site at times 30 and 90 days).

For each root or leaf sample, the same measurements were repeated at least five times.

STATISTICAL ANALYSIS

All statistical analyses were performed with the SAS™ software (Sas Institute Inc. 1989). We used the PROC GLM procedure, with type III sum of square, for unbalanced analyses of variance and analyses of covariance. The LSMEANS procedure was used to compare the least square means (Lsmeans) across levels of class variables. All tests were performed at the 0.01% significance level.

Results

PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF SOILS

The physico-chemical characteristics of soils are given for each site in Table III.1. None of these characteristics was significantly different between the two sites at the P=0.05 level. Moreover, these results are consistent with previous studies (Pochon & Bacvarov 1973; Abbadie & Lensi 1990; Lensi, Domenach & Abbadie 1992; Le Roux *et al.* 1995)

conducted in Lamto: total organic C and N contents are low, pH is acidic and the soil is sandy.

Table III.1. Soil physico-chemical characteristics of the two studied sites. Total C and N contents, mean soil C-to-N ratio, total sands, silts and clays percentages, and mean soil pH were measured between 0 and –10 cm depth; mean soil bulk density (BD) was measured between 0 and -5 cm depth. Values are presented with standard errors (parenthesis). There was no difference between site A and site B for all variables at the p=0.05 level.

site	C (‰)	N (‰)	C:N	Total sands (%)	Total silts (%)	Total clays (%)	BD g mL^{-1}	pH
low nitrification	9.16	0.55	16.89	77.86	13.71	8.43	1.64	6.82
zone (site A)	(0.79)	(0.07)	(1.37)	(1.68)	(1.05)	(1.19)	(0.08)	(0.26)
high nitrification	10.61	0.63	17.05	76.98	14.5	8.52	1.66	6.74
zone (site B)	(0.57)	(0.08)	(2.00)	(1.28)	(1.28)	(1.04)	(0.02)	(0.08)

POTENTIAL OF NITRIFICATION IN THE TWO SITES

The initial concentration of nitrate and the nitrate accumulated after 48 h of aerobic incubation were 15- and 90-fold higher in site B than in site A, respectively (Fig. III.3). These differences are highly significant (total df=134, r^2=0.4391, F=104.11 and P=0.0001 at time 0; total df=134, r^2=0.6327, F=229.1 and P=0.0001 after 48 h incubation). The mean value of the enzymatic potential of nitrification (obtained by subtracting the nitrate initially present in the soil from the nitrate accumulated) was 18 ng NO_3^--N produced 48 h^{-1} g^{-1} dry soil for site A, and 4355 ng NO_3^--N produced 48 h^{-1} g^{-1} dry soil for site B (i.e. in a 240-fold ratio). The intrasite variability of the potential of nitrification was very

similar in the two sites (variation coefficients of 50.0 and 50.7 for site A and B, respectively).

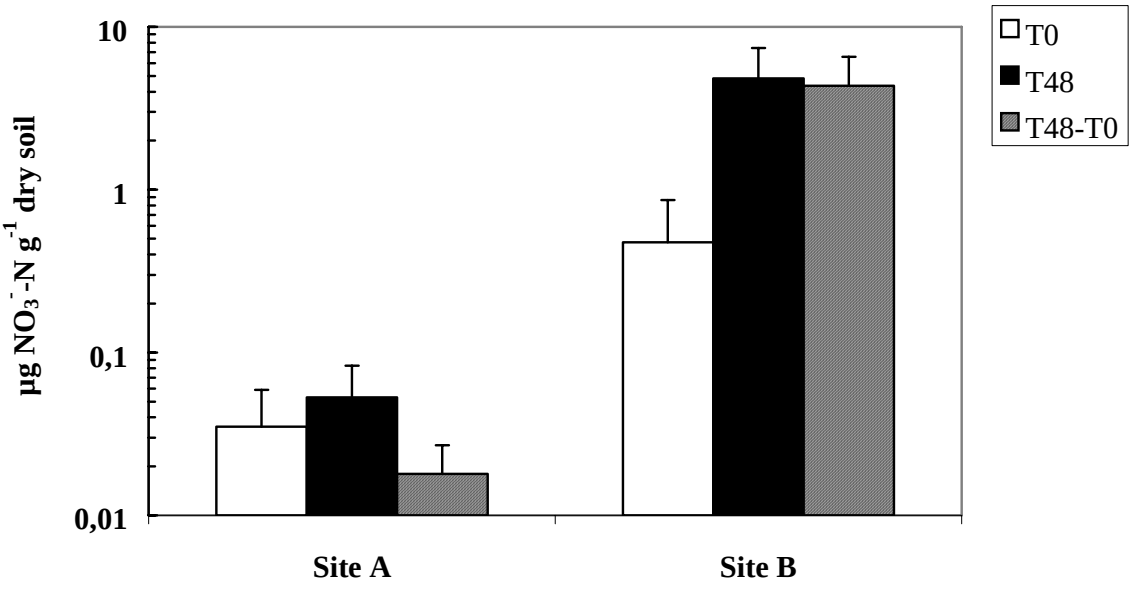


Figure III.3. Comparison of nitrification activities between the low nitrification site (A) and the high nitrification site (B), as µg NO_3^--N g^{-1} dry soil. T0: initial NO_3^- content concentration; T48: NO_3^- concentration after 48 hours aerobic incubation with supply of ammonium; T48-T0: NO_3^- produced during 48 aerobic hours incubation. The statistical analyses are shown in Results. Note the logarithmic scale for y-axis.

NITRATE REDUCTASE ACTIVITY (NRA) OF *HYPARRHENIA DIPLANDRA* PLANTLETS ORIGINATING FROM THE TWO SITES

NRA in roots was always much lower than in the leaves and often close to the detection limit of the method, and no significant difference (n=40, F=0.84, P=0.961) was observed between the root NRA of the plantlets from the two sites.

The leaves of *H. diplandra* plantlets originating from site B had a significant higher NRA that those originating from site A (Fig. III.4).

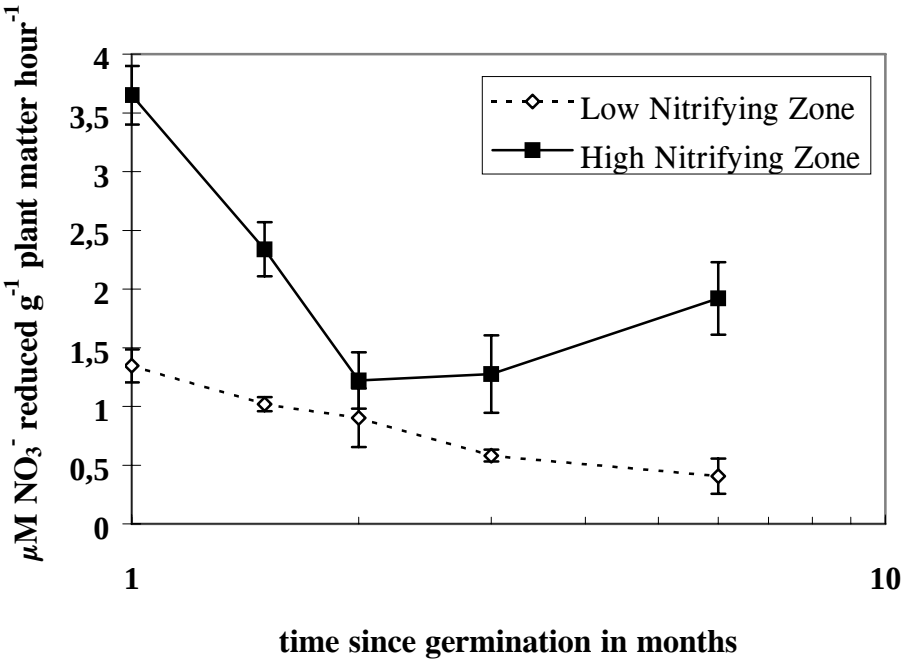


Figure III.4. Comparison of *in vivo* nitrate reductase activities in leaves between *Hyparrhenia diplandra* populations originating from the low nitrification site (A) and the high nitrification site (B), as µM NO_3^- reduced g^{-1} plant matter $hour^{-1}$ and by age class (months since germination, from 1 to 6). The statistical analyses are shown in Table III.2. Note the logarithmic scale for x-axis.

Table III.2 demonstrates that the NRA of the two subpopulations was statistically different in its entire dynamics as well as at each sampling time (i.e. at every plantlet age). After 6 months of plant growth, NRA was found to be four times higher in plants from site B than in plants from site A.

Table III.2. Statistical analyses of the *Hyparrhenia diplandra* subpopulations effect (originating from the low (A) or high (B) nitrifying sites), individuals age effect and crossed effects on nitrate reductase activity in young leaves (results from unbalanced analyses of variance and covariance, type III sum of square.)

	Nitrate reductase activity		
Effect	df	F	P
Population	2	110,77	0,0001
Age of plantlet since germination	7	39,41	0,0001
Population*age	4	14,28	0,0001
Error	137		
r-square	0,8362		

Discussion

POTENTIAL OF NITRIFICATION IN THE TWO SITES

The technique used to measure nitrification was well suited to this study because accurate measurements could be obtained on soil samples with low potential of nitrification after short-term incubations (reducing the interferences owing to the possible utilization of the produced nitrate by other microbial metabolic pathways). The specificity and sensitivity of this method associated with NH_4^+ supplies and optimal aeration offered a valuable approach to the potential of nitrification. It is therefore possible to detect very low rates of nitrification, which would be difficult by other methods based on the direct measurement of NO_3^- in soil.

Despite similar soil physico-chemical characteristics and plant cover, site B displayed a much higher potential of nitrification (240-fold) than the reference site A (Fig. III.3). The intrasite variability was remarkably similar between sites A and B as shown by the variation

coefficient values. The virtual absence of nitrification in the standard site A is in agreement with previous results from this site (Abbadie & Lensi 1990; Lensi, Domenach & Abbadie 1992), other *H. diplandra* sites in Lamto reserve (Pochon & Bacvarov 1973; Abbadie & Lensi 1990), or even other wet savannas dominated by Andropogoneae (Meiklejohn 1962; Bernhard-Reversat 1982). The very high values found in site B confirm the findings of Le Roux *et al.* (1995) who suggested that this site could be a high nitrification site. The site B might therefore be considered as an atypical example of a site dominated by *H. diplandra* expressing substantial nitrification activity. Consequently, the hypothesized depressive effect of *H. diplandra* on nitrification cannot be considered as a general feature of the humid savanna zone from Africa at species level. *H. diplandra*-nitrifiers interactions should only be considered at a plant infra-specific level, whatever these interactions could be. In order to test this hypothesis, further investigations must be performed to compare the two subpopulations of *H. diplandra* by the use of standard molecular tools such as RAPD, AFLP or ITS sequence variation (Welch & McLelland 1990; Baldwin 1992; Vos *et al.* 1995).

RELATIONSHIPS BETWEEN SOIL POTENTIAL OF NITRIFICATION AND NITRATE REDUCTASE ACTIVITY (NRA) OF *HYPARRHENIA DIPLANDRA*

A significant NRA has been found exclusively in the leaves of *H. diplandra*, the activity in the roots being, in several cases, below the detection limit. This result is quite different from observations made on other Graminaceae (Poaceae), such as maize and millet (Wallace 1987), where the NRA is much more equally distributed between roots and shoots. However, these different modalities of NRA occurrence inside a given plant family are not surprising. Several studies have shown that even closely related species may have different patterns of NRA occurrence: exclusively in leaves, exclusively in roots or equally distributed between leaves

and roots (Haynes & Goh 1978). In our study, owing to the extremely low activity detected in roots, the analysis was restricted to the comparison of NRA in leaves.

Through the entire growth period, *H. diplandra* plantlets originating from the high nitrifying site (B) were found to display a significantly higher NRA than those originating from the low nitrifying site (A) (Fig. III.4). The NRA of site B plantlets is comparable to the NRA found in cultivated millet (Wallace 1987), whereas the NRA of site A individuals is close to the activity of NR deficient mutants of barley (Warner, Lin & Kleinhofs 1977). These differences between plantlets remained significant 6 months after the onset of culture. As NRA measurements were performed on plantlets resulting from selfing, cultivated on the same standard compost supplemented with excess NO_3^-, and under identical environmental conditions, it may be assumed that the results obtained reveal intrinsic differences between the two *H. diplandra* subpopulations.

The stability over time of the nitrification status observed in the two sites, which was a central point questioned by our study, is thus supported by (1) the similarity of the potential nitrification values obtained in this study with those obtained by Le Roux *et al*. (1995) in site B and by other authors many years ago in site A, and (2) the differences in NR potential activities in the leaves between the two *H. diplandra* subpopulations which strongly suggest a long-term adaptation of grasses to soil nitrogen cycles differing in their ability to produce nitrate.

In conclusion, we have shown that under the same physical environment (climate and soil) and the same plant cover, two different types of nitrogen cycling (including or excluding nitrification) coexist in savannas: the functioning of the ecosystem is patchy not only in term of intensity but even in terms of occurrence of processes such as nitrification. A strong correspondence was also demonstrated between the variation in the potential rate of nitrification in savanna and the characteristics of nitrogen nutrition of the grasses at

infraspecific level. To our knowledge, it is the first time that such a relationship is shown in the field. In practice, that means that nitrification in soils cannot be analysed separately from plant physiology, the ecosystem being made of small-scale subunits, with partly independent functionings.

Given the stable character of the potential nitrification rate in soil, one can wonder if *Hyparrhenia diplandra* directly controls the level of nitrification as questioned by Munro (1966a, b) and Meiklejohn (1962, 1968) for several species belonging to the Andropogoneae group. Their observations, today strongly debated, led them to hypothesize an allelopathic effect of these grasses on soil nitrifying communities. Only a direct approach based on plant manipulation experiments will be able to elucidate both the nature and mechanisms of Andropogoneae-nitrifiers relationships.

To explain the discrepancy between high plant productivity and nitrogen deficiency in savanna will require the understanding of the role of nitrification in ecosystem functioning. If nitrification significantly affects ecosystem performance, a strong correlation should be observed between plant characteristics (such as productivity, structure, phenology, physiology) and potential nitrification rates. It can be hypothesized that the ability to depress nitrification should give a competitive advantage to the populations of *Hyparrhenia diplandra* or other Andropogoneae species for nitrogen acquisition. This competitive advantage could explain the invasive dynamics of some African Andropogoneae observed in South America (Baruch, Ludlow & Davis 1985; San José & Fariñas 1991; Baruch & Fernández 1993; Klink 1996).

Acknowledgements

We thank D. Aïdara (President of the Abobo-Adjamé University), R. Vuattoux, J.C. Menaut, N. Salin, F. Gourbière, I. Dajoz, E. Kouassi Kouassi, F. Kouamé N'Guessan, P. Savadogo Sadare, V. Degrange, and S. Barot for assistance, and K. Guillaume, J. Gignoux, L. Andahazy and especially S. Struwe for comments. We thank Prof. P.H. Gouyon (VPS, Orsay, France) for access to greenhouse facilities. Supported by grants from the CNRS (SALT-IGBP/GCTE Core Research Program and PNSE Program). Dedicated to the memory of J.L. Tireford (1949-1997), Director of the Geophysical Station of Lamto.

«In intimate contact with the fine roots and separated by only a few µm is an actively metabolizing and multiplying community of bacteria and actinomycetes, known as the rhizoplane. This association with a specific microflora is encouraged by the soluble carbohydrates, oligosaccharides, organic acids, enzymes, vitamins and growth substances exuded by the roots.»

W. Larcher, 1995

CHAPITRE IV: Contrôle racinaire de la nitrification à une échelle décimétrique par la Graminée africaine *Hyparrhenia diplandra*: une balance inhibition/stimulation

INTRODUCTION AU CHAPITRE IV

Après la différenciation nette des deux sites et les éléments suggérant fortement leur stabilité dans le temps vis à vis de la nitrification, cette partie du travail s'inscrit dans la recherche du déterminisme de cette différence. Plus précisément, elle visait à affiner notre compréhension de l'interaction *H. diplandra* – nitrification, *via* **une approche indirecte fondée sur des corrélations**. Nous avons émis l'hypothèse qu'*H. diplandra* pourrait contrôler la nitrification, à un niveau sub-spécifique (les individus *H. diplandra* provenant du site A exprimant un contrôle négatif de la nitrification et ceux du site B ne possédant pas cette capacité), grâce à son système racinaire. Pour contrôler cette hypothèse, nous avons axé notre travail sur trois points principaux, comme le montre la Figure IV.1.

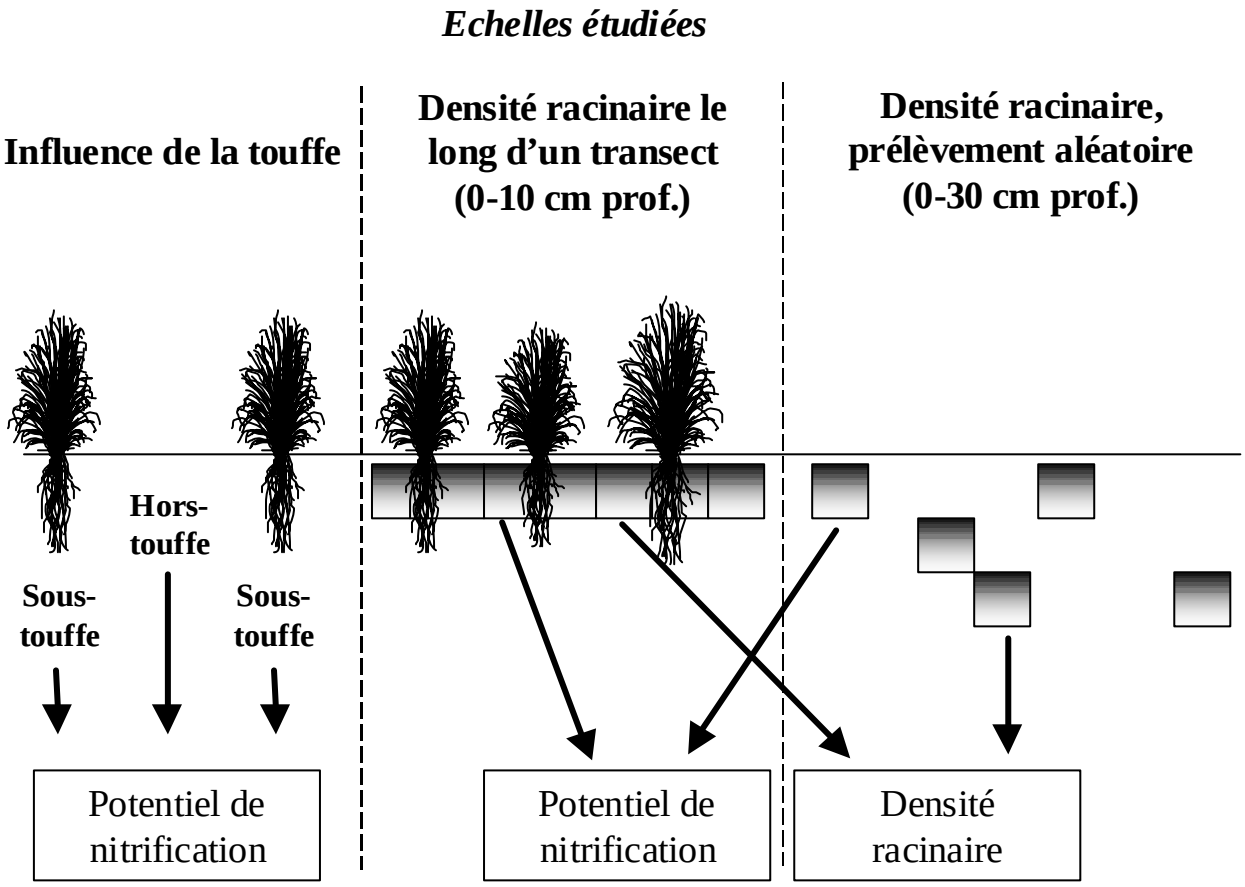


Figure IV.1: Echelles des interactions *H. diplandra*/nitrification étudiées dans ce chapitre.

Les trois axes de travail ont été: (**i**) les corrélations entre le potentiel de nitrification et la présence ou l'absence des touffes d'*H. diplandra*; (**ii**) les corrélations entre la nitrification et la densité racinaire à une échelle particulière définie le long d'un transect sur lequel les touffes sont positionnées; et (**iii**) les corrélations entre la nitrification et la densité racinaire à une échelle moyenne en réalisant des prélèvements aléatoires de sol jusqu'à la profondeur de 30 cm (profondeurs de 0-10, 10-20 et 20-30 cm – Photos 3, 8 – Annexe 1).

Root control of nitrification at decimetric scale by the African grass *Hyparrhenia diplandra*: an inhibition/stimulation balance

J. C. LATA[*1], K. GUILLAUME[1], V. DEGRANGE[2], L. ABBADIE[1] and R. LENSI[2]

[1]*Ecole Normale Supérieure, Laboratoire d'Ecologie, UMR 7625 UPMC ENS CNRS, 46 rue d'Ulm, 75230 Paris Cedex 05, France*

[2]*Laboratoire d'Ecologie Microbienne, UMR CNRS 5557, Université Claude Bernard Lyon I, 69622 Villeurbanne Cedex, France*

*Author for correspondence (lata@biologie.ens.fr).

Short title: Influence of grass roots on nitrifiers

Previous studies showed that Lamto savanna presents a two different types of nitrogen cycle, with high and low nitrification sites, and suggested that the perennial grass *Hyparrhenia diplandra* was responsible for this duality at a subpopulation level, one ecotype being supposed to be able to inhibit nitrification. The present work aimed to investigate the relationships between nitrification and roots of *H. diplandra* at two scales. (i) Plot scale experiments gave new insight about the hypothesised control of nitrification by *H. diplandra* tussocks: the two ecotypes exhibited opposite influences, inhibition in low nitrification site (A) and stimulation in high nitrification site (B). (ii) Decimetric scale experiments demonstrated close negative or positive relationships (in sites A or B, respectively) between roots and nitrification (in the 0-10 cm soil layer), showing an unexpectedly high sensitivity of the nitrification process to root density. In both soils, the correlation between roots and nitrification decreased with depth and practically disappeared in the 20-30 cm soil layer (where the potential of nitrification was found very low). Therefore, the impact of *H. diplandra* on nitrification may be viewed as an inhibition-stimulation balance.

Keywords: *Hyparrhenia diplandra*; Lamto; roots; potential of nitrification; savanna

1. INTRODUCTION

The process of nitrification, which is responsible for the transformation of ammonium into nitrate, plays an important role in ecosystem functioning and especially in nutrient-limited ones, such as the wet savanna of Lamto (Côte d'Ivoire, West Africa). Indeed, it directly participates to the control of (i) the nitrogen plant nutrition and (ii) the nitrogen losses from the ecosystem (Vitousek *et al.* 1979; Keeney 1986; Robertson 1989). In Lamto savanna, nitrification is highly heterogeneous in space, strongly patchy, with high and low

nitrification sites within the same ecosystem (Le Roux *et al.* 1995; Lata *et al.* 1999a). The perennial *Graminaceae (Poaceae) Hyparrhenia diplandra* is the dominant grass of Lamto savanna. This plant is structured in tussocks separated by bare soil (approximately 0.5 m distance between individuals). *H. diplandra* has been strongly suspected to be responsible for the dual functioning (low and high nitrification) of the system at a subpopulation level: the *H. diplandra* subpopulation of the low nitrification site was supposed to be able to suppress nitrification while subpopulation of the high nitrification site was supposed to be unable to express this ability (Lata *et al.* 1999a).

The production of allelopathic compound(s) by the roots of the *H. diplandra* subpopulation from the low nitrifying site has been proposed as the more probable hypothesis to explain the virtual lack of nitrification (Lata *et al.* 1999a). The depressive effect of *H. diplandra* on nitrification has already been reported by Munro (1966a, b), Meiklejohn (1962; 1968) and Rice & Pancholy (1973). However, this hypothesis has remained in the centre of a controversy for a long time since no clear *in situ* evidences has been provided.

In the present paper, the influence of the roots of *H. diplandra* on nitrification was assessed at two scales. At the plot scale, we compared soil nitrification potential in low or high nitrifying sites (0-10 cm layer) and under or between the tussocks. At a decimetric scale, the correlations between the location of the *H. diplandra* tussocks, root biomass and potential of nitrification were studied. This was performed on 1-metre transects designed on the two sites. At this same decimetric scale, this study was completed by investigating the effect of soil depth on the root biomass – nitrification relationship by the use of a random sampling procedure.

2. MATERIALS AND METHODS

(a) *Site description*

Lamto is located in Côte d'Ivoire (West Africa) at latitude 6°13' North and longitude 5°20' West, at the southern limit of the "V Baoulé", a broad grass expanse of savannas which spreads southwards far into the rain forest. The vegetation varies with the topography and five facies, from downslope to upslope, can be distinguished by tree density and the main grass species (Devineau 1976; Menaut & César 1979): a riparian forest along the Bandama river; gallery forests in the thalwegs; herbaceous savanna, without trees other than the palm *Borassus aethiopum,* dominated by the grasses *Loudetia simplex* and *Andropogon schirensis*; shrub savanna dominated by the grasses *Hyparrhenia diplandra* and *Hyparrhenia smithiana*; and dry semi-deciduous forests on the plateaus.

Temperatures are constant throughout the year (average 27°C). Rainfall is variable and four seasons can be distinguished: the long dry season from December to February, the long wet season from March to July, the short dry season in August and the short wet season from September to November. Precipitation averages 1200 mm (statistics from Geophysical Station of Lamto). Granites and derived sands have produced tropical ferrugineous soils with a superficial gravely horizon with pH values around 6.

The samplings were conducted during the long wet season (March-April 1997) in the shrub savanna, the dominant biotope covering almost 55% of the surface of the Lamto reserve (Gautier 1990a, b).

(b) *Soils studied and sampling procedures*

Soils were sampled in two savanna sites (5 km apart, more than 2.5 ha each), both strongly dominated by the perennial *H. diplandra*: the reference site A, where the potential of nitrification has been shown to be low in previous studies (Abbadie, Mariotti & Menaut 1992; Lensi, Domenach & Abbadie 1992; Le Roux *et al.* 1995; Lata *et al.* 1999a) and site B, where a high potential of nitrification has been found (Le Roux *et al.* 1995; Lata *et al.* 1999a). No significant differences were observed between the two sites in both 0-10 cm layer soil characteristics and in plant species composition (Lata *et al.* 1999a). Table IV.1 gives the main physico-chemical characteristics of the soils of the low and high nitrifying sites at the depth 0-10, 10-20 and 20-30 cm. Soils were sandy and slightly acidic (pH-KCl values around 6).

Table IV.1. *Soil physico-chemical characteristics of the two studied sites (low (A) and high (B) nitrifying sites) at different soil depths (0-10, 10-20 and 20-30 cm). Values are presented with standard errors (parenthesis). There was no difference between site A and site B for all variables of same depths at the p=0.05 level.*

site	depth	total sands (%)	total silts (%)	total clays (%)	total N (mg N/g dry soil)	total C (mg C/g dry soil)	C/N
site A	0-10	78.23 (1.85)	13.18 (2.87)	8.59 (1.60)	0.55 (0.07)	9.2 (0.8)	16.7
	10-20	77.86 (1.68)	13.71 (1.05)	8.43 (1.19)	0.59 (0.04)	8.7 (0.5)	14.7
	20-30	76.49 (1.60)	15.22 (2.32)	8.28 (2.37)	0.54 (0.02)	7.5 (0.4)	13.9
site B	0-10	75.51 (2.49)	16.60 (1.40)	7.89 (1.39)	0.63 (0.08)	10.5 (0.6)	16.7
	10-20	76.98 (1.28)	14.50 (1.28)	8.52 (1.04)	0.60 (0.05)	8.6 (0.4)	14.3
	20-30	75.62 (1.79)	14.01 (1.27)	10.37 (0.97)	0.52 (0.04)	7.2 (0.3)	13.8

In the plot scale sampling, 25 soil samples (approx. 500 cm^3 each) have been randomly collected in the 0-10 cm layer under and between the *H. diplandra* tussocks at each site (total number of samples: 100).

In the first decimetric scale sampling, ten cubes of 10x10x10cm of soil were sampled in the 0-10 cm layer along a 1-metre transect at each site. The main criterion to choose transect locations was to dispose along the transect of adjacent areas covered by *H. diplandra* and uncovered areas.

In the second decimetric scale sampling, 35 cubes (of 10x10x10cm) of soil were randomly collected at each three depths: 0-10, 10-20 and 20-30 cm of the two sites in an area of 1 m^2 including the previous transects. All samples were immediately air-dried in the shade, homogenised, sieved (2 mm) and stored until experiments. The roots were then collected and weighted after soil air-drying.

(c) *Enzymatic potential of nitrification assays*

The enzymatic potential of nitrification was measured according to Lensi *et al.* (1986): the NO_3^- produced during an aerobic incubation was deduced from N_2O measurements after an anaerobic incubation in the presence of C_2H_2.

From each soil sample, 15 g subsamples (n=6) were placed in 150 ml plasma flasks. Three subsamples were used to estimate the initial NO_3^- content: they were supplied with 6 ml of a suspension of a denitrifying

organism (*Pseudomonas fluorescens*, $O.D._{580}$ = 2) in a solution containing glucose and glutamic acid (final soil C content for each compound: 0.5 mg C g^{-1} dry soil). This procedure ensures high denitrifying potential and electron donors in excess. The flasks were sealed with rubber stoppers and the atmosphere of each flask was replaced by a He-C_2H_2 mixture (90-10) to ensure anaerobic conditions and N_2O-reductase inhibition. The N_2O accumulation was followed until a constant value (i.e. a total conversion of soil NO_3^- content into N_2O) was reached.

The three other subsamples were used to determine the kinetics of NO_3^- accumulation: they were enriched with 2 ml of a $(NH_4)_2SO_4$ solution (final soil N content: 0.2 mg g^{-1} dry soil) in order to ensure a moisture content equivalent to 80% W.H.C. and no limitation by ammonium (presence of NH_4^+ was also supposed to limit NO_3^- assimilation by microorganisms). Then, the flasks were sealed with parafilm© (which prevents soil from drying but allows gas exchange) and incubated at 27°C for 48 hours in a horizontal position to ensure optimal and homogeneous aeration of the soil. After this aerobic incubation which allows nitrate to accumulate, the soil samples were enriched with 4 ml of a *Pseudomonas fluorescens* suspension ($O.D._{580}$ = 2) in a solution containing glucose and glutamic acid (in concentrations adequate to achieve the same final soil C content as above). Then, anaerobiosis and N_2O inhibition were obtained in the flasks as described above and the N_2O accumulation was followed until a constant value was reached. We ascertained that neither nitrate nor nitrite remained in the *Pseudomonas* suspensions before they were added to the soil: (1) by colorimetry procedure using Morgan's and Griess Ilosway's reagents, and (2) by anaerobic incubation of suspension aliquots (with carbon and C_2H_2 supplies) in order to verify that no N_2O was produced.

N_2O was analysed on a gas chromatograph equipped with an electron capture detector. Previous studies (Abbadie & Lensi 1990; Lensi, Domenach & Abbadie 1992) have demonstrated that the nitrifying potential of different soils was not affected by drying and storage.

The enzymatic potential of nitrification was computed by subtracting the nitrate initially present in the soil from the nitrate accumulated after aerobic incubation and expressed as µg or ng NO_3^--N produced 48 $hours^{-1}$ g^{-1} dry soil.

(d) *Statistical analysis*

All statistical analyses were performed with the SAS® software (Sas Institute Inc. 1989). We used the PROC GLM procedure, with type III sum of square, for unbalanced analyses of variance and analyses of covariance. The LSMEANS procedure was used to compare the least square means (Lsmeans) across levels of class variables. All tests were performed at the 0.05 significance level.

3. RESULTS

(a) *Comparison of the potential of nitrification under and between* H. diplandra *tussocks*

Potential of nitrification was significantly (d.f.=99, r^2=0.6728, F=13.61 and P=0.0001) lower in site A than in site B. In the low nitrifying site (A), the potential of nitrification was significantly (P= 0.0001) lower under than between the tussocks: 8 (± 2) and 75 (± 15) ng NO_3^--N produced 48 $hours^{-1}$ g^{-1} dry soil, respectively. In the high nitrifying site (B), the potential of nitrification was significantly higher under than between the tussocks: 430 (± 110) and 190 (± 70) ng NO_3^--N produced 48 $hours^{-1}$ g^{-1} dry soil, respectively (numbers in parenthesis represents the standard error of the mean).

(b) *Relationships between root densities and potential of nitrification along the 1-metre transects*

Figure IV.2 shows that, in the 0-10 cm layer of the two sites, the fine root weight strictly matches the individual tussock position.

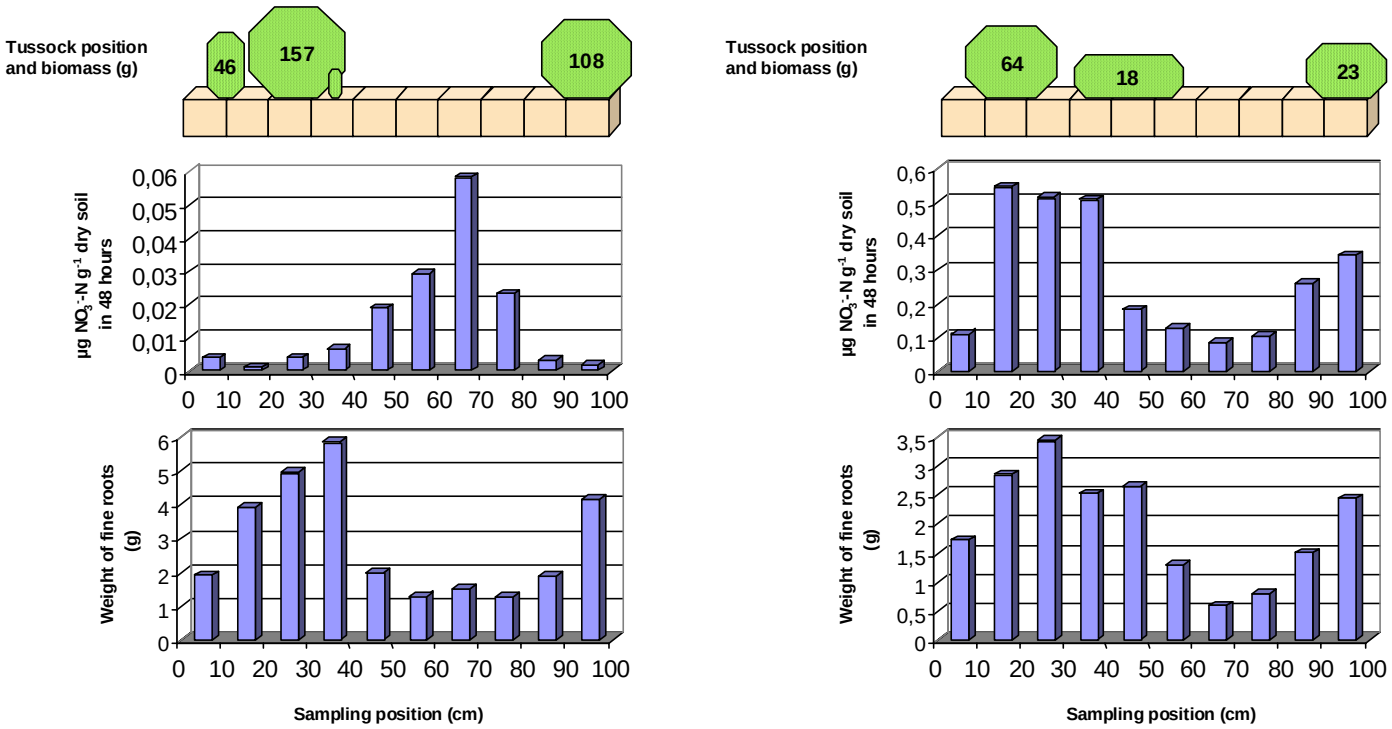


Figure IV.2: Transects in the low nitrification site A (left) and the high nitrification site B (right) at the first depth (0-10 cm). From top to bottom: tussock biomass in grams of dry material; transect drawing with tussock location, each cube is 10x10x10 cm; nitrification potential in µg NO_3^--N per g dry soil in 48 hours aerobic incubation; total fine roots weight in grams.

The highest root densities were measured under the biggest tussocks and the lowest in the soil between the tussocks (df=59, r^2=0.9304, F=58.32 and P=0.0001). In the low nitrification site A, soil samples exhibited the lowest potential of nitrification where the root weight was at its maximum (P=0.0001). On the contrary, in the high nitrification site B, soil samples exhibited the highest potential of nitrification where the root weight was at its maximum (P=0.0001).

(c) *Correlations between root densities and potential of nitrification at three depths*

Figure IV.3 and Table IV.2 show that the mean potential of nitrification was significantly higher in site B than in site A at all depths, and that within each site, the

nitrification significantly decreased with the depth. The root density in the low nitrification site (site A) was significantly higher than in the high nitrification site (site B) at all depths and, within each site, the mean root density significantly decreased with depth. A significant correlation was observed in the two sites between the root density and the potential of nitrification in the 0-10 cm and 10-20 cm soil layers. This correlation was negative in site A and positive in site B, clearly stronger in the 0-10 than in the 10-20 cm layer, and no significant correlation could be established between the two variables in the deeper soil layer (20-30 cm).

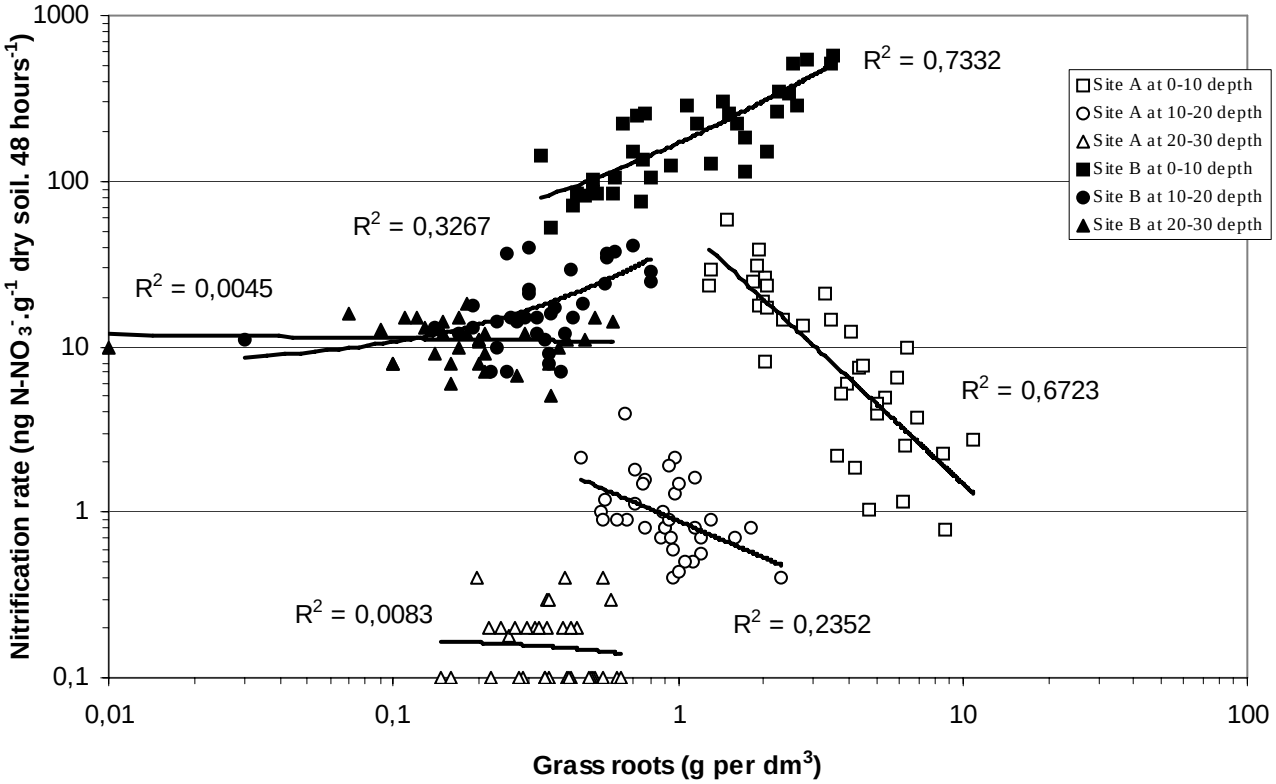


Figure IV.3: Relationships between grass root density and nitrification potentials at three depths (0-10, 10-20 and 20-30 cm) in the low nitrification site (A) and the high nitrification site (B). Grass root densities expressed as gram per dm^3 dry soil. Nitrification expressed as ng NO_3^--N per g dry soil produced in 48 hours aerobic incubation. Note the logarithmic scale for x and y-axes. N=35 for each treatment.

Table IV.2. *Statistical analyses of the site effect (low (A) and high (B) nitrifying sites), depth effect (0-10, 10-20 and 20-30 cm depth), root density effect (g per dm^3) and interaction effects on nitrification potential (results from unbalanced analyses of variance and covariance, type III sum of square.)*

	Nitrification potential		
effect	df	F	P
site	1	408,90	0,0001
depth	2	350,16	0,0001
root	1	9,35	0,0025
site*root	1	74,11	0,0001
depth*root	2	3,04	0,0500
site*depth	2	49,14	0,0001
site*depth*root	2	29,07	0,0001
error		198	
r-square		0,9607	

4. DISCUSSION

(a) *Influence of* H. diplandra *tussocks on the potential of nitrification at the plot scale*

The values of nitrate production observed in the plot scale sampling show that considerable difference in the nitrification status exists between the two sites. This confirms previous results reported by Le Roux *et al.* (1995) and Lata *et al.* (1999a) which described a dual nitrogen cycling in the Lamto ecosystem. Moreover, the potential of nitrification was significantly lower under than between the tussocks in the low nitrifying site (A) while an opposite result was observed for the high nitrifying site (B). The results found for site A strengthen the hypothesis of a direct control of nitrification by *H. diplandra*. This interaction could result from the production of allelopathic compound(s) by the roots of site A subpopulation as previously suggested (Munro 1966a, b; Meiklejohn 1962 and 1968; Rice & Pancholy 1973; Lensi, Domenach & Abbadie 1992; Lata *et al.* 1999a). Results found in site B needs to be more deeply discussed. They strongly suggest that roots of the non-inhibiting *H. diplandra* subpopulation are able to stimulate

nitrification. This may appears surprising because, due to the autotrophic character of nitrification, this process is generally considered as not positively affected by the root exudates. However, Lamto savanna presents peculiar organisational characteristics. Indeed, this ecosystem is highly structured and the major part of energy exchanges, microorganisms and production of organic and inorganic (such as ammonium, the substrate for nitrification) compounds is concentrated in the close vicinity of roots. Moreover, it is now known that nitrifiers are able to grow in mixotrophic or heterotrophic media (Bock, Sundermeyer-Klinger & Stackebrandt 1983), and to survive and multiply in soils under heterotrophic conditions (Degrange, Lensi & Bardin 1997). The extremely contrasted situations co-existing in the Lamto savanna, associated to the physiological properties of nitrifiers, may explain why a higher potential of nitrification could be clearly detected in the rhizosphere of the non-inhibiting plants in this ecosystem.

(b) Relationships between **H. diplandra** *tussocks location, root density and potential of nitrification at decimetric scale*

Plot scale sampling described above demonstrated that the spatial variations of the low or high potential of nitrification in site A and B, respectively, are partly oriented by the *H. diplandra* distribution at each site, i.e. that the depleting or stimulating effects are strengthened in the root zone of *H. diplandra*. Based on this simple (binary) situation (presence/absence of roots), this suggests that the potential of nitrification might be root-density dependent.

In both sites, the potential of nitrification of the superficial soil layer was horizontally variable at a decimetric scale (transect sampling - Figure IV.2). This variability was higher in the low than in the high nitrifying sites (55 and 7 fold ratios were found between maximal and minimal values in sites A and B, respectively), suggesting that the inhibiting

impact on nitrification is more intense than the stimulating one. Similar values of spatial variability of nitrification have already been reported in temperate forest ecosystems, but they have been found at higher scales (Robertson 1982; Lensi *et al.* 1991). Moreover, we succeeded in identifying the density of roots as one of the main factors responsible for the small-scale spatial variability of nitrification. Indeed, clear negative or positive relationships (in sites A or B, respectively) exist between tussocks location and root biomass on one hand and potential of nitrification on the other hand. The high sensitivity of the nitrifying process to the density of roots in both inhibiting (site A) or stimulating (site B) configurations must be underlined: along the transects, in both sites, contiguous soil cubes may exhibit very different potentials of nitrification (always satisfactorily related to a change in root density - Figure IV.2). These data from the decimetric scale samplings supply complementary arguments to support the hypothesis of a direct involvement of *H. diplandra* in the regulation of the nitrifying process in the studied savanna ecosystem. They also validate the decimetric scale as a pertinent scale to study the variability of the nitrifying process in such type of ecosystems and the determinism of this variability.

In both sites, the distribution of potential nitrification was also found to be strongly affected by soil depth (Figure IV.3). The decrease in the intensity of the process with depth has been already reported for other ecosystems such as temperate forests (Clays-Josserand, Lensi & Gourbière 1991). The influence of depth on nitrification and/or other microbial processes was also previously reported in Lamto ecosystem (Pochon & Bacvarov 1973; Lensi, Domenach & Abbadie 1992; Nacro 1997). It could yet be noticed that in the present study, the influence of soil depth on nitrification was very marked (0-10 cm soil layer -to- 20-30 cm soil layer ratio of 77 for low nitrifying site A and 19 for high nitrifying site B). The higher root density in site A than in site B at all depths (Figure IV.3) could be related

to the higher grass basal cover in site A than in site B (unpublished observations). In the two sites, a strong decrease in root density with soil depth was also observed. This is coherent with previous results from Lamto savanna, which reported the maximum of grass root biomass in the first 10 cm (Menaut & César 1979). The strong correlation existing in the superficial soil layer between nitrification and root biomass found in this vertical sampling, confirms the transect sampling results. Similarly, the negative (site A) and positive (site B) aspect of this correlation, confirms the results of both transect and plot scale samplings. However, the role of root density as one of the main factors involved in the regulation of the nitrifying process appears much more questionable in the deeper soil layers. Indeed, the correlation between the two variables became weaker in the 10-20 cm soil layer and practically disappeared in the 20-30 cm soil layer. Two non-exclusive hypothesis could explain this result: (i) factors other than plant roots became predominant in controlling nitrification in the deeper horizons and (ii) the root produced and/or induced mediators involved in the inhibiting effect as well as in the stimulating one are too "diluted" in the deeper layer to support any detectable interaction between the two variables.

In conclusion, the present study confirms that Lamto savanna is a dual ecosystem according to its nitrification status and supports the hypothesis of a direct role of the graminae *Hyparrhenia diplandra* in the control of nitrification. It also gives insight on the mode of plant-nitrification interaction by showing a close relationship between nitrification and root density either for inhibiting or stimulating influences. In fact, the impact of *H. diplandra* roots on nitrification may be viewed as an inhibition-stimulation balance under two hypotheses: (i) the *H. diplandra* plants in site A are only able to inhibit nitrification without any stimulating ability and (ii) the *H. diplandra* plants in site A may

exhibit both inhibiting and stimulating capacities, but the strong intensity of the inhibiting effect totally masks the stimulating one. Only the identification of the (hypothetical) chemical mediator(s) responsible for the inhibition may elucidate this question.

Finally, in order to definitively prove the role of plants on the control of nitrification in the Lamto ecosystem, the indirect approach based on correlations used in the present study must be completed by direct approaches. Experiments based on (i) ecosystem manipulations including transplantation of the two *H. diplandra* subpopulation in their own and in the heterologous site and (ii) *in vitro* evaluation of the influence of soil extracts from the two sites on pure culture of nitrifiers, are presently in course.

We thank D. Aïdara (President of the Abobo-Adjamé University), N. Salin, R. Vuattoux, J. Jantzen, E. Kouassi Kouassi, F. Kouamé N'Guessan, P. Savadogo Sadare, and S. Barot for assistance. Supported by grants from the CNRS (SALT-IGBP/GCTE Core Research Program) and Programme National Sol et Erosion (PNSE).

«Our increasing knowledge of allelopathy is aiding greatly in our understanding of many ecological phenomena, such as succession and patterning of vegetation.»

E.L. Rice, 1979

CHAPITRE V: La nitrification: un handicap contourné par les écosystèmes savanes?

INTRODUCTION AU CHAPITRE V

Trois aspects ont été privilégiés dans ce chapitre, comme présenté dans la Figure V.1.

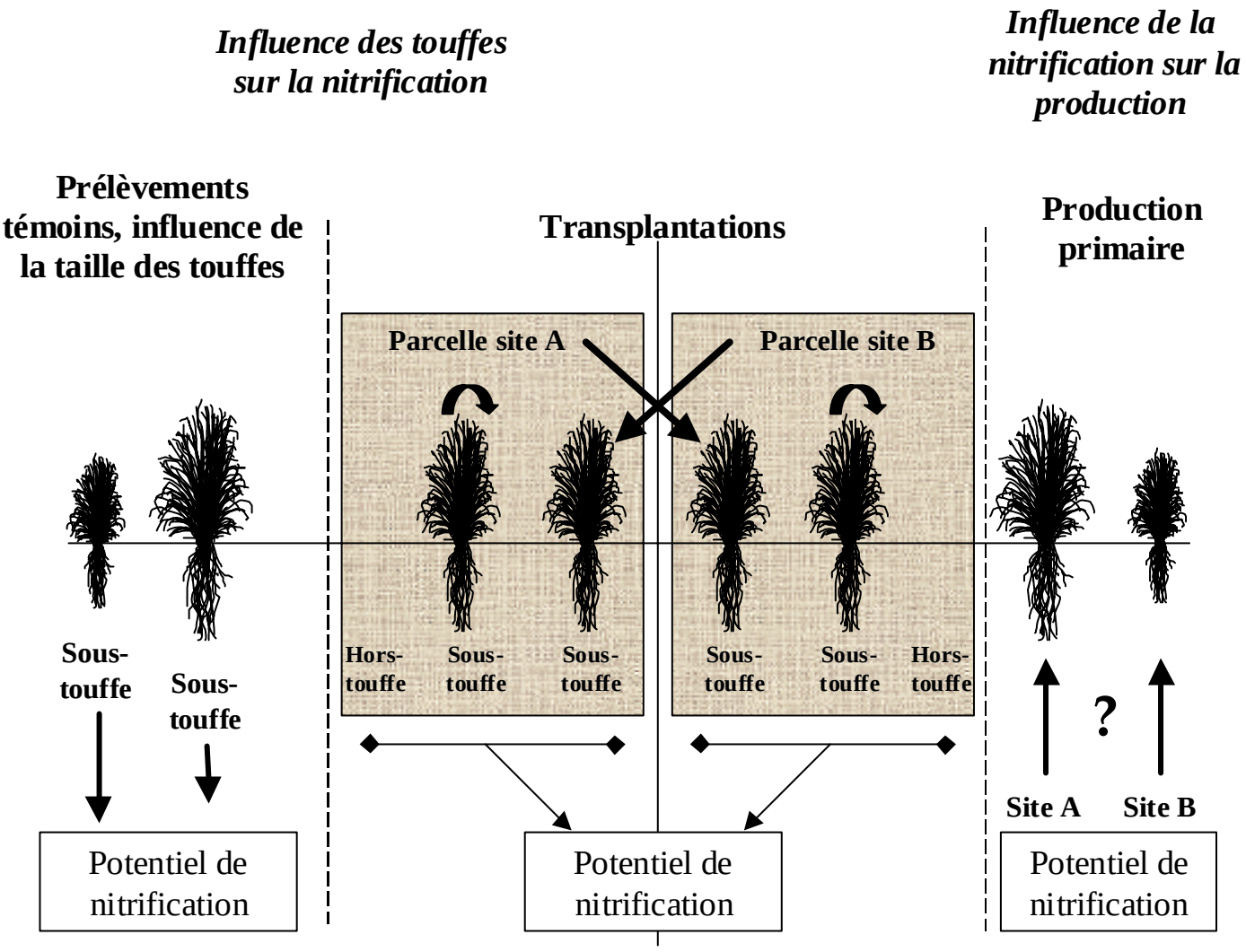


Figure V.1: Interactions touffes d'*H. diplandra*/nitrification/production primaire étudiées dans ce chapitre.

(**i**) Confortés dans notre hypothèse de l'implication d'*H. diplandra* dans le contrôle de la nitrification, à la fois au niveau de la présence/absence de la touffe et de la corrélation entre nitrification et densité racinaire, nous avons cherché à démontrer expérimentalement de façon irréfutable la réalité d'un effet direct d'*H. diplandra* sur l'intensité du potentiel de

nitrification. Des parcelles expérimentales ont donc été créées *in situ* (Photo 9 – Annexe 1), en plantant dans chaque site des *H. diplandra* provenant du même site (témoins) et des *H. diplandra* provenant de l'autre site. Les potentiels de nitrification ont été mesurés sous et hors touffes, et comparés à des prélèvements témoins sous et hors des touffes en dehors des parcelles manipulées.

(**ii**) Nous avions constaté que les effets inhibition/stimulation dépendaient de la densité racinaire. Partant de l'hypothèse que, plus une touffe est grosse, plus sa biomasse racinaire est élevée, nous avons cherché à corréler le potentiel de nitrification à un indice de taille de la touffe, en l'occurrence son diamètre.

(**iii**) Enfin, nous avons comparé la "performance" des deux sites en terme de répartition spécifique des couverts herbacés, biomasse herbacée épigée et hypogée et couverture végétale totale du sol, afin d'établir une hypothèse relative à l'interaction nitrification/"performance" de l'écosystème (le résultat attendu étant celui d'une moindre performance en site nitrifiant).

Nitrification: a handicap bypassed by savanna ecosystems?

Jean-Christophe Lata*, Valérie Degrange†, Robert Lensi† & Luc Abbadie*

**Ecole Normale Supérieure, Laboratoire d'Ecologie, UMR-C.N.R.S. 7625, 46 rue d'Ulm, 75230 Paris Cedex 05, France*

†*Laboratoire d'Ecologie Microbienne, UMR-C.N.R.S. 5557, Université Claude Bernard Lyon I, 69622 Villeurbanne Cedex, France*

Nitrification plays a key role in the functioning of natural ecosystems. It is directly involved in the control of plant nitrogen nutrition and soil nitrogen losses through leaching and denitrification. In a wet tropical savanna ecosystem (Lamto, Ivory Coast), the soil nitrogen cycle is dual (Lata *et al.*, 1999a), with distinct high/low nitrification sites. This contrasted ecosystem was chosen as a model to investigate whether vegetation could inhibit nitrification, as questioned for long time (Stiven, 1952; Munro, 1966b; Meiklejohn, 1968; Rice & Pancholy, 1972; Purchase, 1974; Lodhi, 1978; Jordan, Todd & Escalante, 1979; Robertson, 1984; Donaldson & Henderson, 1990; McCarty, Bremner & Schmidt, 1991; Stienstra, Klein Gunnewiek & Laanbroek, 1994) and the possible consequences in terms of ecosystem performance. We provide the first *in situ* evidence of the direct control of nitrification by grasses and show that productivity indices are significantly lower in the high than in the low nitrifying site. These results strongly suggest that nitrification constitutes a handicap for the ecosystem that can be bypassed by the ability of grasses to inhibit this process.

Over the last 40 years, huge areas of forest and grassland ecosystems, such as the humid savannas in West Africa, have been reported as low nitrifying systems (Verstraete, 1981; Bate, 1981; Haynes, 1986; Serça *et al.*, 1998). It has been hypothesised that grasses, and especially species belonging to the *Andropogoneae* family, are responsible for the inhibition of nitrification supposed to result from root exudation of allelopathic compounds (Munro, 1966b; Meiklejohn, 1968; Rice & Pancholy, 1972). This hypothesis remained at the centre of controversy for many years (Stiven, 1952; Munro, 1966b; Meiklejohn, 1968; Rice & Pancholy, 1972; Purchase, 1974; Lodhi, 1978; Jordan, Todd & Escalante, 1979; Robertson, 1984; Donaldson & Henderson, 1990; McCarty, Bremner & Schmidt, 1991; Stienstra, Klein Gunnewiek & Laanbroek, 1994; Lata *et al.*, 1999a)

because of the absence of *in situ* evidence of plant involvement in nitrification repression. Nitrate is a labile form of nitrogen which increases the scarcity of this element in the ecosystem. It is not adsorbed on clays and organic colloids and is easily leached, or denitrified when soil is water saturated. The ability to inhibit nitrification could therefore be considered as an adaptive trait of several grasses allowing them to bypass microbial processes that constitute a negative constraint for plant productivity. In the Lamto reserve, the nitrification does not occur (Lensi, Domenach & Abbadie, 1992) in the shrub savanna (vegetation type covering almost 55% of the land surface and dominated by the perennial *Andropogoneae Hyparrhenia diplandra*). However a recently discovered site of more than 2.5 ha surprisingly exhibits a 240-fold higher nitrification potential (Le Roux *et al*., 1995; Lata *et al*., 1999a). This suggests that the lack of nitrification under *Andropogoneae* cover is not a general feature.

Our objective was then (i) to clarify the role of *H. diplandra* in the control of nitrification and (ii) discuss the possible impact of the presence/absence of nitrification on ecosystem functioning. We therefore used in a comparative approach this nitrifying site (B) and a standard non-nitrifying one (A) (similar in their physico-chemical characteristics and, in the species composition of the grass cover, and both strongly dominated by *H. diplandra*). We designed in March 1997 *in situ* experimental plots with transplanted *H. diplandra* individuals coming from both high and low nitrifying soils and compared them to control plots with individuals replanted in their own soils. We measured the nitrification potential, *i.e.* the ability of nitrifiers to oxidize ammonium, avoiding short-term variations induced by climate or other environmental factors (see Methods).

After only one year of stabilisation, the results clearly showed (Table V.1) that the grasses are actually involved in the control of nitrification and that only the *H. diplandra* subpopulation coming from the low nitrifying site A exhibits inhibiting capacities.

Table V.1. Nitrification potential activities expressed as ng NO_3^--N.g^{-1} dry soil. 48 $hours^{-1}$ and reported as mean ± s.e.m.. A and B sites are respectively low and high nitrification sites. Same letters indicate treatments that are not significantly different ($p>0.05$).

Table V.1 Nitrification potential of the transplanted plots and undisturbed areas

	Nitrate produced in 48 hours	
Sampling characteristics	Under-tuft sample	Between-tuft sample
Control plots sampling:		
A plant on A site:	**3.1**[a] ± 1.1	**4.8**[a] ± 2.2
B plant on B site:	**162.1**[b,e] ± 9.5	**268.7**[c] ± 61.5
Transplantation plots sampling:		
B plant on A site:	**171.2**[b,e] ± 21.3	**104.8** ± 17.0
A plant on B site:	**49.6**[d] ± 9.5	**38.5**[d] ± 6.1
Undisturbed areas sampling:		
A site:	**7.5**[a] ± 9.0	**23.1** ± 4.2
B site:	**175.5**[b,c] ± 27.3	**145.0**[e] ± 16.6

Indeed, under the tufts transplanted from the high nitrifying site B to the low nitrifying site A, the nitrification potential was completely restored and was not significantly different from the potential of the control plot in site B (B plants on B site). Under the tufts transplanted from the low nitrifying site A to the high nitrifying site B, the nitrification potential was reduced four-fold compared to the control site B. When plants were transplanted on their native soil (control plots), the observed nitrifying status was not significantly different from the undisturbed soil (samplings at the same dates, in undisturbed areas) (Table V.1). This shows that the experimental protocol itself was not responsible for the observed changes.

The direct control of grasses on nitrification was also shown by the data collected in undisturbed areas. In the high nitrifying site B, nitrification was significantly higher under than between the tufts, while an opposite trend was found at the low nitrifying site A (Table V.1). Moreover, at site A, a negative correlation was observed between *H. diplandra* tuft diameters and the potential of nitrification, while this correlation was positive at the high nitrifying site B (Fig. V.2).

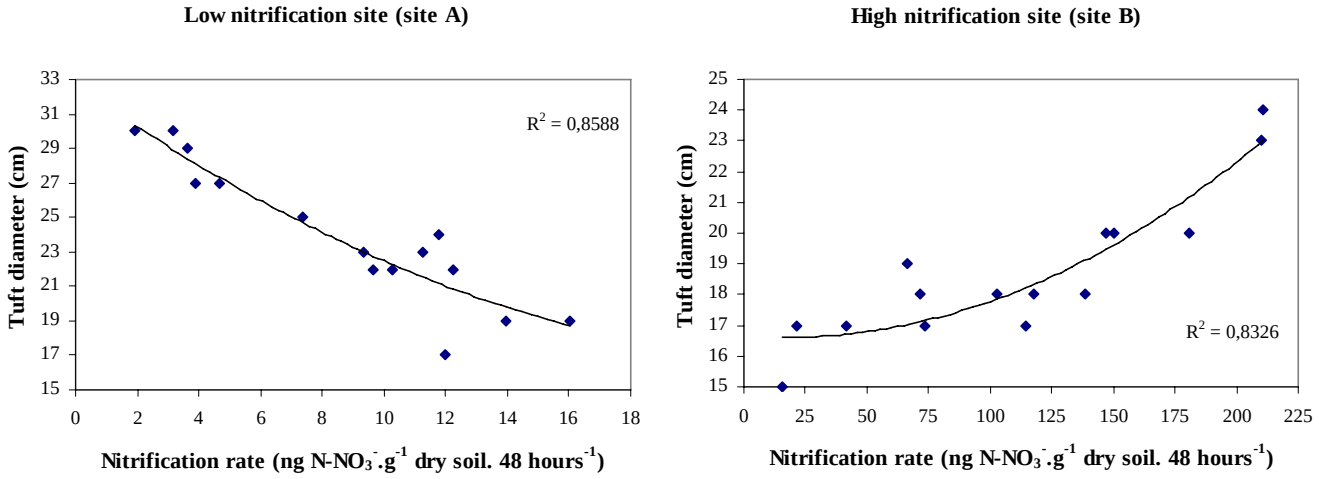


Figure V.2 Relationship between nitrification potential under *Hyparrhenia diplandra* tufts and the tuft diameters. Nitrification expressed as ng NO_3^--N produced in 48 hours.g^{-1} dry soil. Diameters expressed as cm.

We hypothesise that (i) for the subpopulation able to inhibit nitrification (site A plants), inhibition efficiency is directly dependent on root mass (correlated with tuft diameter – data not shown) and (ii) for the subpopulation unable to inhibit nitrification, the rate of nitrification depends on substrate availability (ammonium), itself root mass dependent. This correlation between root mass and intensity of nitrification inhibition supports the hypothesis of an allelopathic effect of grasses on nitrifiers through root exudation of phytotoxin(s) (such as phenolic acids and tannins).

These results also show that nitrogen cycling in this ecosystem functions as a dual cycle driven by one or another of the two *H. diplandra* subpopulations. In order to tackle the possible feedback of nitrogen cycle changes on ecosystem performance, we performed *in situ* measurements of plant productivity traits during the study period (results shown in Table V.2 refer to April 1998 data).

Table V.2. Above and below-ground biomasses are given in g dry material.m^{-2}; grass basal cover is the total grass basal cover/total surface of soil; species composition is each species basal cover/total grass basal cover. All data are reported as mean ± s.e.m.. [1]: all production (except for the below-ground biomass) indexes are significantly different between the two sites at $p<0.05$ level. [2]: all species distribution percentages are not significantly different ($p>0.05$), except for 'Other species'.

Table V.2 Production indexes and species distribution of the two studied sites

Data set	Low nitrification site (A)	High nitrification site (B)
Production indexes		
Above-ground biomass (g.m^{-2})	270 ± 55	130 ± 30
Below-ground biomass (g.m^{-2})	420 ± 35[1]	360 ± 85[1]
Grass basal cover (%)	11.5 ± 1.1	2.5 ± 0.3
Shoot to Root ratio	0.65 ± 0.18	0.37 ± 0.12
Species composition (%)		
Hyparrhenia diplandra	69.4 ± 7.8	80.7 ± 9.8
Hyparrhenia smithiana	2.3 ± 0.6	4.5 ± 0.9
Andropogon canaliculatus	4.5 ± 1.3	3.6 ± 3.3
Loudetia simplex	11.5 ± 9.2	6.2 ± 10.7
Other species (≤ 1%)	12.3 ± 2.4[2]	5.0 ± 2.8[2]
Total *Andropogoneae*	84.5 ± 9.8	89.3 ± 8.5

At all dates, the productivity indices were significantly lower in the high nitrifying site B: aerial biomass and percentage of grass basal cover are respectively about half and fifth of the values recorded for the low nitrifying site A. The root biomass was also similar, which results in a shoot-to-root ratio approximately lower by half in site B when compared to site A. As shoot-to-root ratio was shown to be negatively correlated to soil nutrient availability by many authors (Gregory, Shepherd & Cooper, 1984; Chapin, 1988), the difference between sites A and B supports the hypothesis of a lower conservation (*i.e.* a

lower residence time) of nitrogen in the high nitrifying site B than in the low nitrifying site A. Moreover, since the root biomass does not significantly differ between the two sites, the input of organic matter and organic nitrogen to soil is the same in both nitrifying and non nitrifying zones, resulting in equal total C and N contents in the two soils (the aboveground biomass is burnt each year). That supports the hypothesis of a difference in mineral nitrogen conservation in spite of a comparable size of the two organic nitrogen pools, sources of the mineral nitrogen. Even if unknown factors could be involved in the low growing rate of the non suppressing form, it seems likely that the observed differences in productivity are due to different soil nutrient availabilities.

Lamto savannas are among the most productive ecosystems in the world (Abbadie, Mariotti & Menaut, 1992) in spite of a very low soil nutrient pool. It has been suggested that this discrepancy between measured productivity and soil fertility can be explained by the patchy recycling of nutrients from dead root matter, due to the tufted structure of grass cover (Abbadie, Mariotti & Menaut, 1992). Based on the results presented here, we propose that the direct control of nitrogen transformation processes by grasses is also a realistic, complementary explanation.

Is the high nitrifying site B a remnant portion of a system where nitrification was the rule? or a first indication of a change towards a nitrifying system? Even if the high nitrifying system seems less performant, could both systems coexist for a long time, as suggested (Lata *et al.*, 1999a) by evidence of plant adaptation (*i.e.* genetic differences in the assimilatory enzyme nitrate reductase)? Environmental gradients or ecosystem disturbances could also explain why plants from site A do not invade the site B area. Only long-term field surveys and simulations will be able to answer this question.

The ability of grasses to control soil nitrification should have major consequences on ecosystem dynamics not only by enhancing nitrogen availability at the plant cover level,

but also by improving competitive ability at the individual plant level. We therefore hypothesise that the invasiveness of African grasses in South America (Baruch, Ludlow & Davis, 1985; San José & Fariñas, 1991; Baruch & Fernández, 1993; Klink, 1996) could be the consequence of their direct control on nitrification, resulting in the rapid elimination of indigenous species by competition. This change in plant cover is probably associated with less limitation of primary production due to nitrogen, and this could explain the observed increase in soil organic matter content. These grasses could therefore be managed in order to increase the rate of fertility restoration during the inter-crop periods by accelerating nitrogen accumulation.

METHODS

Site location. Both sites A and B (respectively low and high nitrification sites) are located in the shrub savanna of the Lamto reserve (Ivory Coast). They are 5 km apart and more than 2.5 ha each.

Experimental plots. Fifty individual tufts randomly sampled in each site A and B were transplanted on cleared soil plots (15x15m). All tuft root systems were washed before replanting. We carried out four types of combination: tufts replanted on their own site (control plots: A plant on A site and B plant on B site), and two inter-site transplantations (A plant on B site; B plant on A site). A mean tuft distance of about 40 cm was respected for plot construction in order to reproduce the natural grass cover structure.

Soil samples. After one year, different samples were taken. Soil samples were collected at each site under and between tufts of each plot, and under and between tufts of undisturbed area. Soil samples were collected with a drill to a 10 cm depth (maximum microbial activity depth). On each plot, 25 under-tuft and 10 between-tuft samples were collected. At each undisturbed area, 30 under-tuft and 30 between-tuft samples were collected. Samples were then immediately air-dried in the shade and stored.

Nitrification potential measurements. Measurements were performed according to Lensi *et al.*, 1986. It should be noted that the potential nitrification measurements do not change with short-term environmental variations. For each soil sample, potential nitrification was measured in triplicate.

Plant production indexes and species compositions. Species composition was estimated at the two sites along 50 x 3 m transects (3 per site), identifying every plant species. For each tuft encountered, the diameter

was measured. The species compositions were then estimated by adding the basal area of each individual tuft in order to measure the relative spatial cover of each species and family. The total sum gave the percentage of grass basal cover. Above-ground biomass was estimated by harvesting at random 8x1 m^2 per site of total grass cover on each of several dates. Below-ground biomass was measured on the same areas between 0 and 30 cm depth.

Statistical analyses. All statistical analyses were performed with the SAS statistical package (Sas Institute Inc. 1989). We used the PROC GLM procedure, with type III sum of square, for unbalanced analyses of variance and analyses of covariance. The LSMEANS procedure was used to compare the least square means across levels of class variables. All tests were performed at the 0.01% significance level.

Acknowledgements. We thank D. Aïdara (President of the Abobo-Adjamé University), R. Vuattoux, N. Salin, J.C. Menaut, J. Jantzen and S. Barot for technical assistance, and M. Loreau, M. Hochberg, F. Gourbière and K. Guillaume for comments.

Correspondence and requests for materials should be addressed to J.C.L. (e-mail: lata@biologie.ens.fr).

«The availability of resources […] varies spatially and temporally. Individual plants respond to these patterns and simultaneously modify the patterns for themselves and for their neighbors.»

F.A. Bazzaz, 1998

CHAPITRE VI: Source de variations de la production primaire entre sites de savanes à fort et faible potentiel de nitrification: différences d'accessibilité aux nutriments, ou différences de modes de croissance entre deux sous-populations d'herbacées?

INTRODUCTION AU CHAPITRE VI

Le chapitre précédent montre l'existence de grandes différences entre les indices de production des deux sites (biomasse aérienne, rapport épigé/hypogé et couverture totale au sol inférieurs pour le site nitrifiant B). Ceci suggère l'hypothèse d'une moindre production primaire de la végétation en zone nitrifiante due à une moindre accessibilité à la ressource azote, mais ces différences pouvaient aussi être dues à des différences intrinsèques de mode de croissance des sous-populations d'*H. diplandra*.

Afin d'affiner cette dernière hypothèse, nous avons comparé plusieurs critères entre les deux sous-populations d'*H. diplandra*, à la fois *in situ*, en conditions contrôlées et au moyen d'expériences de compétition sur le terrain (Figure VI.1).

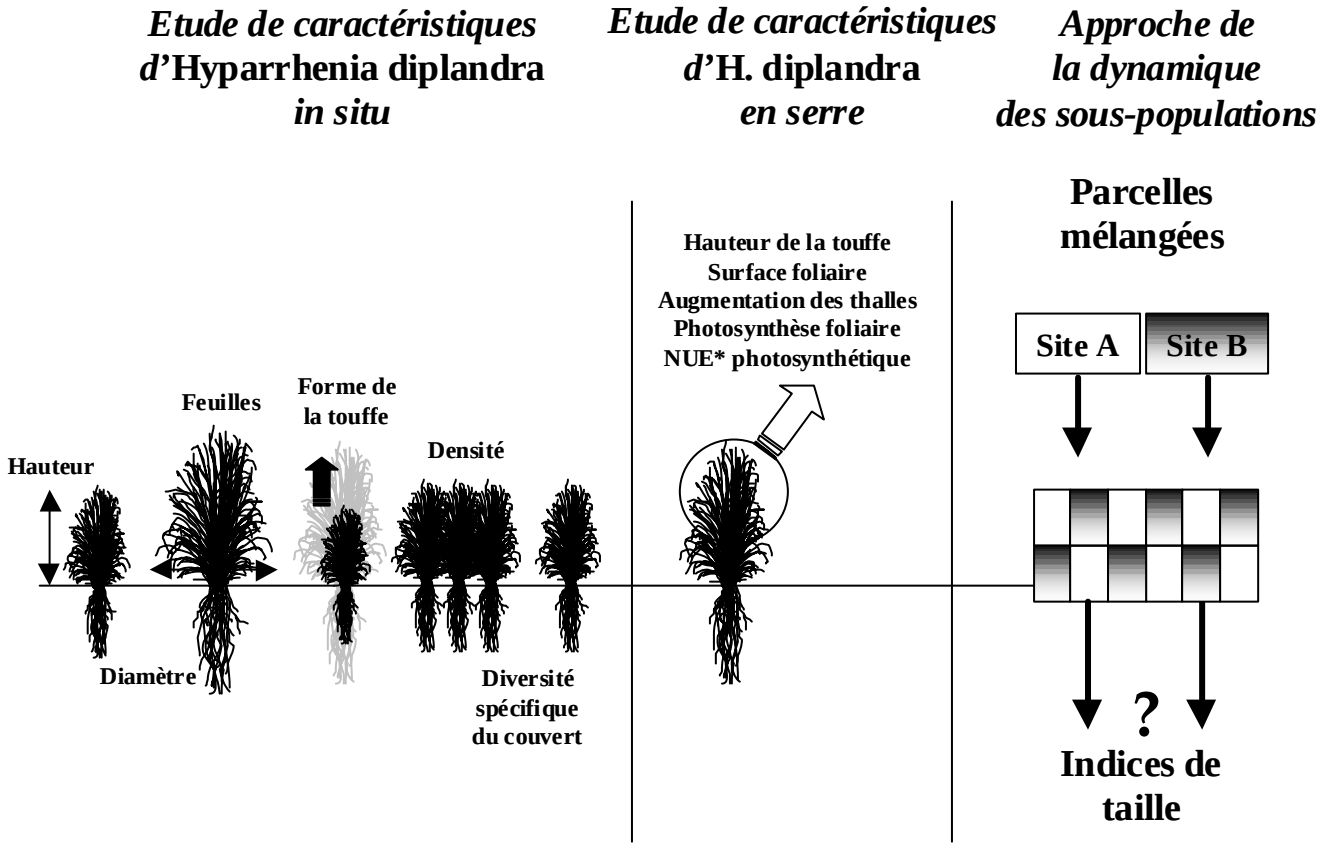


Figure VI.1: Indices phénotypiques et dynamiques d'*H. diplandra* et d'autres espèces de Graminées des deux types de systèmes étudiés dans ce chapitre. * NUE: Nutrient Use Efficiency.

Les indices choisis sont la hauteur, le diamètre, le nombre et la distribution spatiale des feuilles des touffes (indices morphométriques), l'augmentation du nombre de talles (indice de la croissance), la surface foliaire, la photosynthèse foliaire et l'efficience photosynthétique d'utilisation de l'azote (NUE).

Afin d'approcher la notion de compétition entre les deux sous-populations d'*H. diplandra*, des parcelles expérimentales ont été créées dans chaque site, en plantant en alternance (damier) des *H. diplandra* provenant du même site et des *H. diplandra* provenant de l'autre site (*i.e*. individus *H. diplandra* A et B sur sol A, et A et B sur sol B). Des mesures d'indices de taille ont été réalisées sur ces individus pendant trois années.

Notre hypothèse était que l'on pourrait observer des différences *in situ* pour certaines caractéristiques (Photos 10, 11 – Annexe 1), qui pourraient se maintenir en conditions contrôlées (serre) ou de mixité *in situ* (parcelles). Si tel était le cas, les différences de production primaire entre les deux types de sites seraient causées par des différences de mode de croissance intrinsèques aux sous-populations d'*H. diplandra*. Cette hypothèse n'exclurait cependant pas l'influence d'une disponibilité différente en azote des deux sites, mais placerait cette influence sur le long terme, avec des sous-populations d'*H. diplandra* pouvant être adaptées à ces deux types de systèmes.

Source of variations in primary production between high- and low-nitrification savanna sites: different nutrient status or different growth behaviour between two grass subpopulations?

J.C. LATA*°, X. LE ROUX†, J. SUEUR*, L. ABBADIE* and R. LENSI‡

*****Ecole Normale Supérieure, Laboratoire d'Ecologie, UMR 7625 UPMC ENS CNRS, 46 rue d'Ulm, 75230 Paris Cedex 05, France; †U.A. Bioclimatologie-PIAF (INRA-Université Blaise Pascal), Site de Crouel, 234 av. du Brezet, 63039 Clermont-Ferrand Cedex 02, France and ‡ Laboratoire d'Ecologie Microbienne, UMR CNRS 5557, Université Claude Bernard Lyon I, 69622 Villeurbanne Cedex, France

Key-words: growth indices, *Hyparrhenia diplandra*, Lamto, Nitrogen Use Efficiency, potential of nitrification, size indices, species diversity, wet savanna

°Author for correspondence (lata@biologie.ens.fr)

Tel: +33 1 44 32 38 77

Fax: +33 1 44 32 38 85

Short title: vegetation characteristics on high- and low-nitrification sites

In Lamto savannas, sites exhibiting high- and very low-nitrification potential coexist, although *Hyparrhenia diplandra* is the dominant grass on all sites (Lata *et al.*, 1999a). The ability or inability of *H. diplandra* subpopulations to inhibit soil nitrification via root exudate(s) has been suggested as the source of this contrasting nitrification potential (Lata *et al.*, 1999b). Above-ground primary production is lower in high than in low nitrification sites (Lata *et al.*, 1999b), suggesting (i) a lower nitrogen availability in the former site, and/or (ii) the existence of distinct grass subpopulations exhibiting intrinsic different structural/functional characteristics independently from nitrogen availability. To test the latter hypothesis, measurements of plant size, growth and functional indices were made on individuals of the two subpopulations (i) growing in the field (i.e. on low- or high-nitrification sites), (ii) grown under similar conditions in a greenhouse, and (iii) growing in the field after cross plots manipulations. Under natural field conditions, tuft density of *H. diplandra*, that represented 80 to 85% of total herbaceous biomass, was not different between the two sites. However, tuft size indices (tuft height, basal diameter, and leaf number) of *H. diplandra* were lower in high- than in low-nitrification sites. Under the same greenhouse conditions, subpopulations of *H. diplandra* exhibited different tuft size indices (tuft height, number of leaves). However, individual leaf surface, maximal leaf photosynthesis, and photosynthetic nitrogen use efficiency were not significantly different between subpopulations. When grown on the same soil (i.e. on soil from the low- or high-nitrification sites), *H. diplandra* individuals from the subpopulation of the high-nitrification-site always presented decreasing size indices when compared to individuals from the subpopulation of the low-nitrification-site. These results show that, even when grown under the same environmental

conditions, the two subpopulations actually exhibit different structural/functional characteristics.

The nitrification in soils is an important process that partly controls nitrogen cycle, nitrogen availability for plants, and nitrogen conservation at ecosystem level. This process is particularly critical in nutrient-poor systems like the wet savanna of Lamto (West Africa) where nitrogen is considered as the major factor limiting primary production (Bate, 1981). Previous studies have shown that in Lamto, the spatial distribution of nitrification is very heterogeneous, and that high and low nitrification sites are encountered, with a 240-fold difference in nitrification potential between two types of sites (Le Roux *et al.*, 1995; Lata *et al.*, 1999a). It has been demonstrated that *H. diplandra* is responsible of this dual situation: only one subpopulation is able to inhibit nitrification (Lata *et al.*, 1999b). This conclusion has been sustained by the negative correlation observed between *H. diplandra* root density and potential of nitrification in the low nitrification site (Lata *et al.*, 1999c). These results meet previous data from Munro (1966 a, b), Meiklejohn (1962, 1968) and Rice & Pancholy (1973) showing a depressive effect of many grasses on nitrifiers activity, especially those belonging to the *Andropogoneae* group, as *H. diplandra*, probably *via* the production of allelopathic compound(s) by roots. Results from Lata *et al*. (1999b) refine previous data by suggesting that such inhibiting ability must be considered at a sub-population level.

Recently, primary production has been compared between low- and high-nitrification sites (Lata *et al.*, 1999c). Aboveground biomass and shoot-to-root ratio are 2-fold lower and grass basal cover is 5-fold lower in high- than in low-nitrification sites. As the two sites have both identical soil physico-chemical and species distribution characteristics (Lata *et al.*, 1999b), a tentative explanation is that nitrogen availability is lower in high-nitrification sites, due to losses of the nitrate form through denitrification and leaching (Vitousek *et al.*, 1979;

Robertson, 1989). The lower shoot-to-root ratio observed in the high-nitrification site is consistent with this hypothesis, according to the functional equilibrium theory (Davidson, 1969; Brouwer, 1983; Gregory, Shepherd & Cooper, 1984; Chapin, 1988). Another tentative explanation is that individuals from the two subpopulations exhibit intrinsic, different structural/functional attributes. In this case, structural/functional attributes of the individuals from the two subpopulations should differ when all the individuals are grown under the same environmental conditions, and particularly for a given nitrogen availability.

In order to test the latter hypothesis, measurements of plant size indices (tuft height, basal diameter, shape, number of leaves, and individual leaf surface) were made for individuals of the two subpopulations (i) growing in the field (i.e. in low- or high-nitrification sites), (ii) grown under similar conditions in a greenhouse, and (iii) after cross plots manipulations to compare plant growth between individuals of the two *H. diplandra* subpopulations grown in mixture, which allows competitive interactions. In addition, tillering rate and ecophysiological traits (light-saturated photosynthesis and photosynthetic nitrogen use efficiency) were compared between individuals of the two subpopulations grown under greenhouse conditions.

Methods

Site description

Lamto is located in Côte d'Ivoire (West Africa) at latitude 6°13' North and longitude 5°20' West, at the southern limit of the "V Baoulé", a broad grass expanse of savannas which spreads southwards far into the rain forest. The vegetation varies with the topography and five facies, from downslope to upslope, can be distinguished by tree density and the main grass species (Devineau, 1976; Menaut & César 1979): a riparian forest along the Bandama river; gallery forests in the thalwegs; herbaceous savannas, without trees other than the palm *Borassus aethiopum*, dominated by the grasses *Loudetia simplex* and *Andropogon schirensis*; shrub savannas dominated by the grasses *Hyparrhenia diplandra* and *H. smithiana*; and dry semi-deciduous forests on the plateaus. Temperatures are constant throughout the year (average 27 °C). Rainfall is variable and four seasons can be distinguished: the long dry season from December to February, the long wet season from March to July, the short dry season in August and the short wet season from September to November. Annual precipitation averages 1200 mm (statistics from Geophysical Station of Lamto). Granites and derived sands have produced tropical ferrugineous soils with a superficial gravely horizon with pH values around 6 (Lata *et al.*, 1999b).

All the experiments were conducted during the long wet season (March-April of 1996, 1997 and 1998) in the shrub savannas, the dominant biotope covering almost 55% of the reserve (Gautier, 1990). Experiments took place in two savanna sites (5 km apart, more than 2.5 ha each), both dominated by *H. diplandra* (80% of the plant cover, no significant difference between sites at $P<0.05$, $n=8$): the reference site A, where the potential of nitrification has been shown to be low in previous studies (Abbadie, Mariotti & Menaut 1992; Lensi, Domenach & Abbadie 1992; Le Roux *et al.*, 1995; Lata *et al.*, 1999a,c) and site B,

where a high potential of nitrification has been reported (Le Roux *et al.*, 1995; Lata *et al.*, 1999a, c). The main soil physico-chemical characteristics have been found comparable between the two sites (Lata *et al.*, 1999b, c). Species compositions, grass basal cover and grass biomass of the two sites have been previously reported by Lata *et al.* (1999c): the composition was identical, but above-ground biomass and grass basal cover of the high nitrification site B were strongly lower when compared to the low nitrification site A (270 $g.m^{-2}$ and 11.5 % for site A, and 130 $g.m^{-2}$ and 2.5 % for site B, for above-ground biomass and grass basal cover, respectively).

In situ **measurements on grasses growing on low- and high-nitrification sites**

Specific diversity of the grass layer and tuft density of H. diplandra

During March-April 1997, all the perennial grass individuals were identified along 50 x 3 m transects at the two sites (3 transects per site). Simpson's index (Simpson, 1949), Shannon-Weaver index (Shannon and Weaver, 1949) and equitability index (Whittaker, 1972) were used to compare the specific diversity of the two sites. Tuft density of the dominant grass *H. diplandra* (that represented 80 and 85% of total herbaceous biomass on the A and B sites, respectively) was estimated at the two sites along the same 50 x 3 m transects (3 per site). In addition, density of annual sprouts was also measured on four 1 m^2 plots randomly selected on the two sites.

Tuft size indices of H. diplandra

In each site, tuft basal diameter and height were measured on 150 individuals randomly sampled on the above-described transects. Number of leaves and single leaf surfaces (15

leaves per tuft) were measured on 30 randomly sampled tussocks in each site. To quantify the shape of the *H. diplandra* tuft foliage, the maximum distance between leaves and plant axis was measured at 14 heights and in the four cardinal directions for 15 tussocks sampled in each site.

Measurements on *H. diplandra* individuals from the two subpopulations grown in greenhouse

Characteristics of *H. diplandra* from the two subpopulations were compared for individuals grown under the same greenhouse conditions. Seed banks produced by selfing (through wrapping of inflorescences) of the two *H. diplandra* subpopulations were collected *in situ*. After germination on humidified filter paper, plantlets were grown under controlled greenhouse conditions on a standard compost (solid base: loam; sand: 50 litres m^{-3}; pH(H_2O): 6.0-6.3) and supplied with a nutrient solution (PG-Mix^{TM} 12.14.24 NPK fertiliser (Hydro Agri): 1.5 kg m^{-3}). After a 141 days growing period, tuft size indices (tuft height, number of leaves, and individual leaf surface) and thalli increment rate were measured on 15 individuals per subpopulation. Four months after germination, light saturated photosynthesis was measured on the first fully expanded leaf of eight individual tufts with a portable infrared gas analyser system (type LVA2, Analytical Development Co., Hoddesdon, UK). All the measurements were made in a controlled growing chamber and under the same environmental conditions in the leaf chamber (air temperature of 25°C; air water vapour pressure deficit around 1 kPa; and 1290 µmol m^{-2} s^{-1} Photosynthetically Active Radiation). After leaf gas exchange measurements, leaves were sampled and fresh leaf area and leaf dry mass were measured. Leaf nitrogen concentration was determined by the Kjeldahl method (Duchaufour,

1965) and photosynthetic nitrogen use efficiency, NUE, was determined as the ratio between light-saturated leaf photosynthesis and nitrogen concentration.

In situ measurements on *H. diplandra* after crossed plots manipulations

Two crossed plots (one per site) were built in the field in March-April 1995. Each plot measured 5 m x 6 m, with a 0.5 m border. After clearing the whole surface, 16 *H. diplandra* tussocks were randomly collected in each site, and replanted in each plot using a Latin-square distribution with a 0.5 m distance between tufts (8 individuals from site A and 8 from site B). The 0.5 m distance was chosen to reproduce the typical distance between tufts as observed in the natural grass layer, and thus allows competitive interactions between tufts. During three years, height, basal diameter and number of leaves of each tussock were measured at the same dates (mid April) in the two plots.

Statistical analysis

When not specified, all statistical analyses were performed with the SAS® software (Sas Institute Inc. 1989). We used the PROC GLM (General Linear Model) procedure, with type III sum of square, for unbalanced analyses of variance and analyses of covariance. The LSMEANS procedure was used to compare the least square means (Lsmeans) across levels of class variables. All tests were performed at the 5% significance level.

Results

Plant characteristics of field growing *H. diplandra*

Specific diversity of the grass layer and density of H. diplandra *tufts in the two sites*

The total number of species and all the diversity indices computed were significantly higher in the low nitrification site A than in the high nitrification site B (Table VI.1). The mean annual sprout density was significantly four-fold higher in site B than in site A (Table VI.1). No difference between the two sites was found in tuft density of *H. diplandra* (Table VI.1).

Table VI.1. Specific diversity of the grass layer and tussock density of *H. diplandra* in the low nitrification site (A) and the high nitrification site (B). Values are presented with standard errors (parenthesis). Variables significantly different between A and B sites (p=0.05 level) are indicated by a star.

	A site	B site	Analyses
Total number of observed species on 1350 m^2	19 (1.73)	13 (2.64)	*
Simpson's index	6.52 (1.09)	2.46 (0.22)	*
Shannon-Weaver index	2.14 (0.12)	1.39 (0.10)	*
Equitability index	0.31 (0.05)	0.12 (0.01)	*
Mean annual sprout density (ind. m^{-2})	162 (48)	680 (93)	*
H. diplandra density (ind. m^{-2})	1.71 (0.46)	1.40 (0.33)	N.S.

Tuft characteristics of H. diplandra *in the two sites*

Except individual leaf surface, all the tuft characteristics measured in the field on *H. diplandra* were significantly different between sites A and B (Table VI.2). *H. diplandra* subpopulation from the low nitrification site exhibited much higher size indices (tuft height, basal diameter, and number of leaves) than *H. diplandra* subpopulation from the high

nitrification site. The *in situ* frequency distribution of tuft heights and basal diameters among the two *H. diplandra* subpopulations is shown in Figure VI.2.

Table VI.2. Tussock size indices of *Hyparrhenia diplandra* from the low nitrification site (A) and the high nitrification site (B) growing in the field. Values are presented with standard errors (parenthesis). Variables significantly different between A and B sites (p=0.05 level) are indicated by a star.

	A site	B site	Analyses
Tussock height (cm)	83.0 (5.2)	48.8 (13.0)	*
Number of leaves per tussock	475 (292)	155 (20)	*
Individual leaf surface (cm^2)	22.6 (7.4)	23.8 (3.5)	N.S.
Tussock basal diameter (cm)	24.7 (6.8)	11.9 (3.1)	*

For each subpopulation, the two tuft size indices were normally distributed, but the frequency distribution for site A subpopulation was shifted toward higher size classes. Individuals with low size indices (height < 35 cm and diameter < 10 cm) were only found in site B, whereas individuals exhibiting high size indices (height > 95 cm and diameter > 24 cm) were only found in site A. It must be noticed that the actual differences in these size indices have been also observed between *H. diplandra* subpopulations at other sampling dates including the period of maximal biomass (data not shown). In addition to tuft height, the maximum distance between leaves and plant axis was lower on site B than on site A (Figure VI.3). However, the shape of the tuft foliage (double incurved shape) was similar between individuals of the two subpopulations.

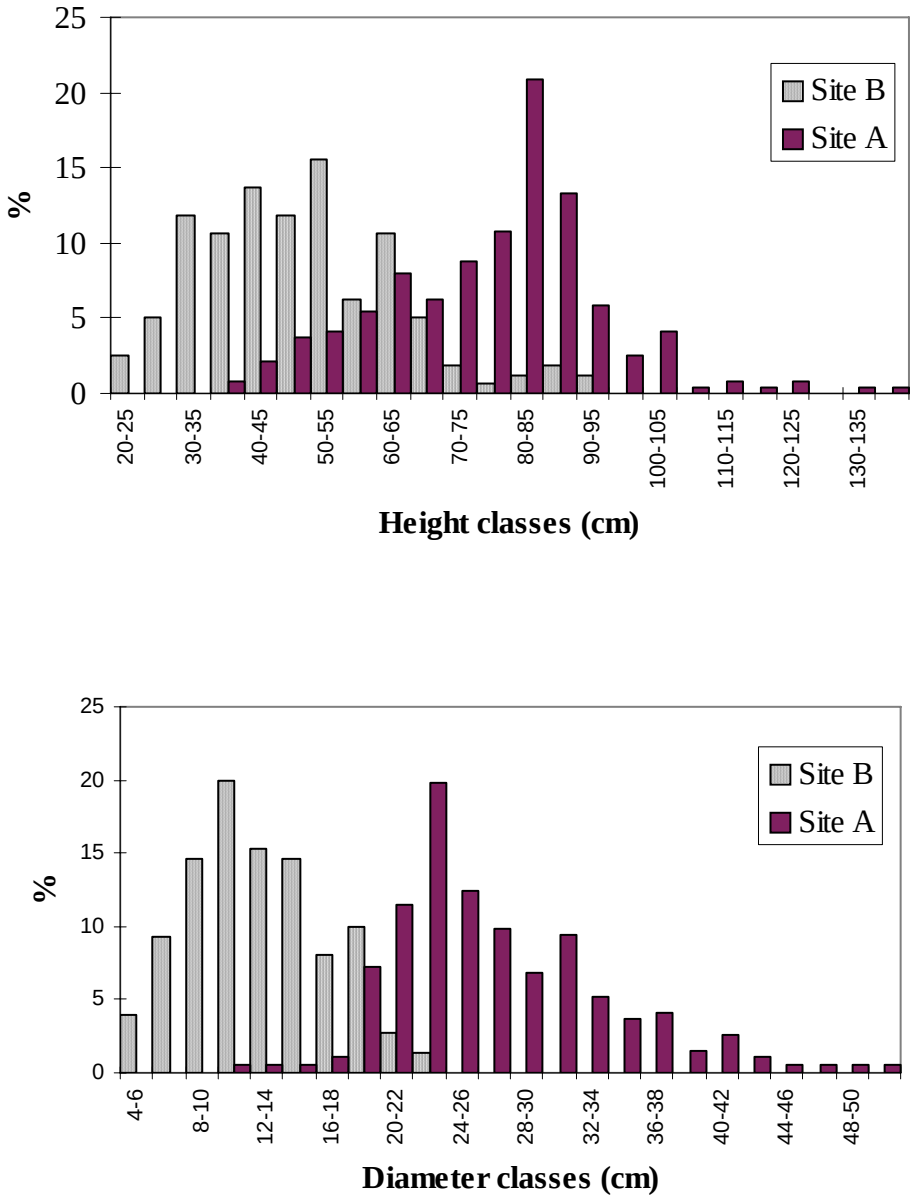


Fig. VI.2. Frequency distribution of tussock height and basal diameter of *H. diplandra* individuals growing in the low nitrification site (A) and the high nitrification site (B). N=150 for each treatment.

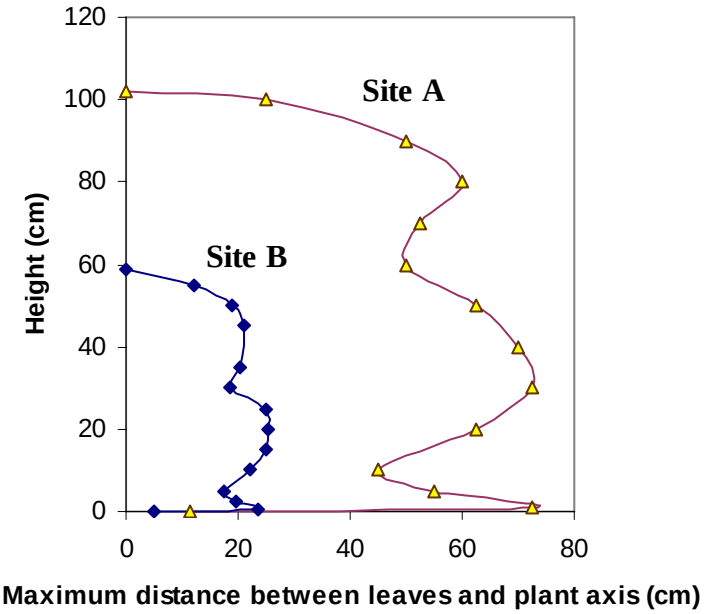


Fig. VI.3. Mean maximum distance between leaves and the plant axis for individual *Hyparrhenia diplandra* tussocks growing in the two sites. N=15 for each subpopulation.

Characteristics of *H. diplandra* individuals growing in greenhouse

When grown under the same greenhouse conditions, *H. diplandra* individuals from the A subpopulation exhibited higher tuft height, number of leaves per tuft, and number of thalli increment rate than individuals from the B subpopulation (Table VI.3). In contrast, mean individual leaf surface, light-saturated leaf photosynthesis and photosynthetic nitrogen use efficiency were non-significantly different between the two subpopulations.

Table VI.3. Phenotypic characteristics of *Hyparrhenia diplandra* tussocks from the low nitrification site (A) and the high nitrification site (B) grown under greenhouse

conditions. Values are presented with standard errors (parenthesis). Variables significantly different between A and B sites at the p=0.05 level are indicated by a star.

	A site	B site	Analyses
Tussock height (cm)	83 (2)	45 (1)	*
Thalli increment rate per tussock (thalli day^{-1})	0.17 (0.07)	0.05 (0.04)	*
Number of leaves per tussock	683 (125)	245 (87)	*
Individual leaf surface (cm^2)	24.4 (6.4)	24.9 (7.5)	N.S.
Maximum leaf photosynthesis (µmol CO_2 m^{-2} s^{-1})	21.5 (2.0)	23.0 (2.5)	N.S.
Photosynthetic NUE (µmol CO_2 g^{-1} N s^{-1})	23.7 (4.3)	25.5 (5.8)	N.S.

Characteristics of field growing *H. diplandra* individuals after cross plots manipulations

When a mixture of *H. diplandra* individuals from the A and B subpopulations were grown on a bare soil plot in the A site, individuals from the A subpopulation had higher tuft height, basal diameter and number of leaves than individuals from the B subpopulation along the 3-year period after plot setting up (Figure VI.4). At the end of the experiment, mean tuft height, basal diameter and number of leaves for individuals from the B subpopulation were 58 %, 43 % and 40 % of values observed for individuals from the A subpopulation, respectively. Similarly, when grown on a bare soil plot in the B site, *H. diplandra* individuals from the A subpopulation also exhibited higher tuft height, basal diameter and number of leaves than individuals from the B subpopulation (Figure VI.5). At the end of the experiment, mean tuft height, basal diameter and number of leaves for individuals from the B subpopulation were 44 %, 26 % and 17 % of values observed for individuals from the A subpopulation, respectively. In both cases, tuft height, basal diameter and number of leaves of individuals from the B subpopulation significantly decreased during the last two years (1997-1998) whereas these size indices still increased or remained stable for individuals from the A subpopulation (Figures VI.4 and VI.5).

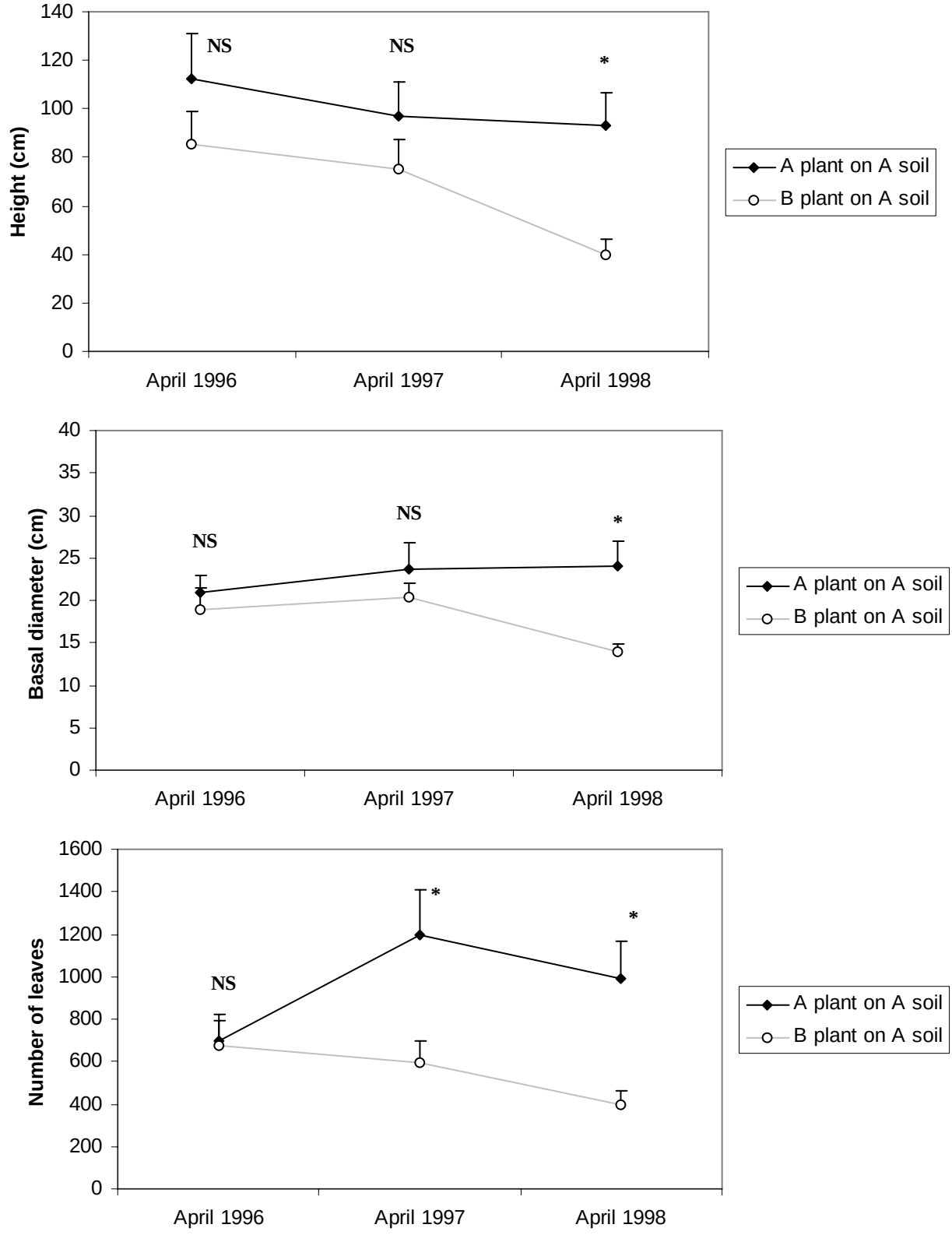


Fig. VI.4. Temporal course of mean height, basal diameter and number of leaves of *H. diplandra* tussocks (mixture of individuals from the two subpopulations B and A) planted on bare soil plots in the low nitrification site (A) in late April 1995. N=8 and bars are standard errors. For each date, significant differences between subpopulations are indicated by *.

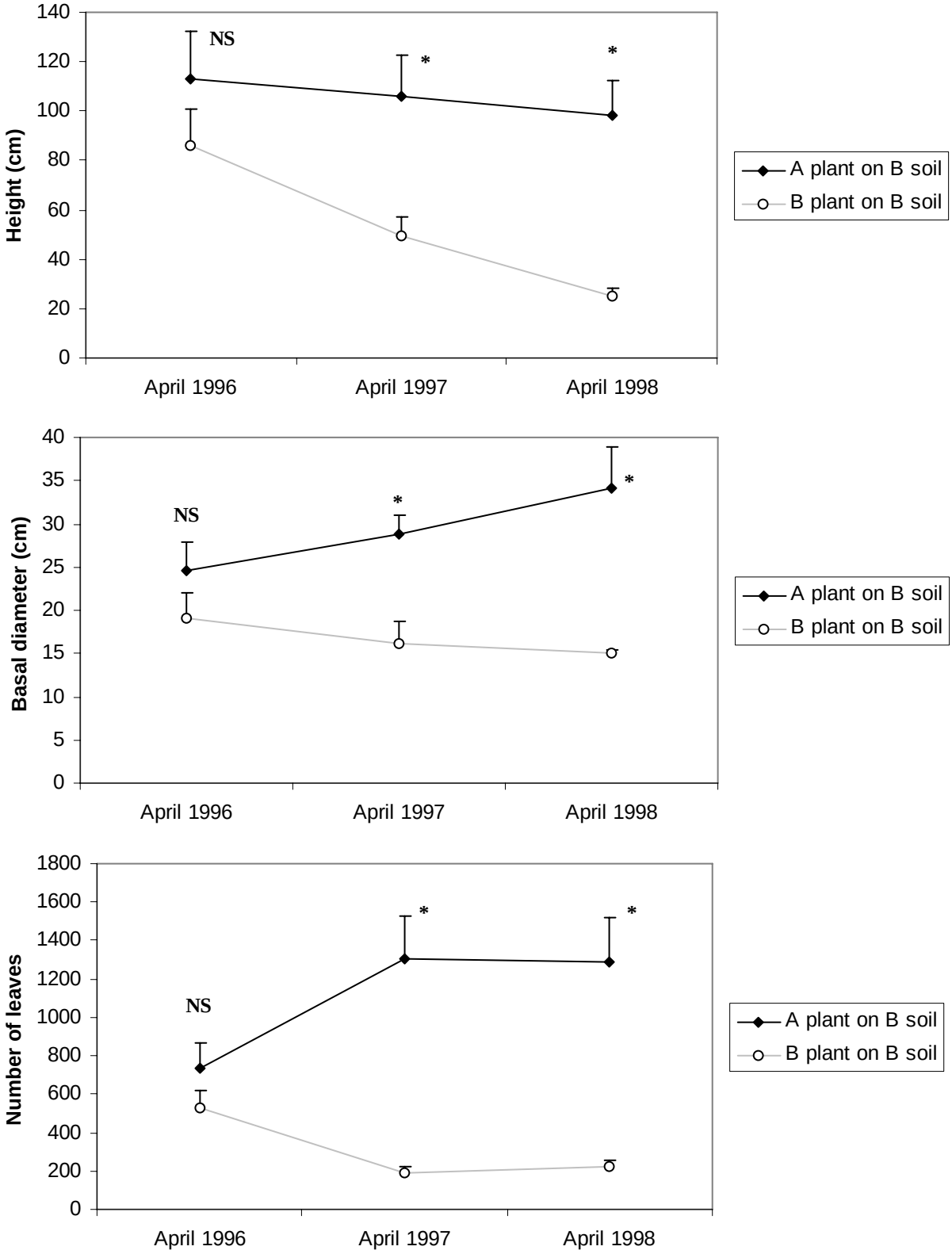


Fig. VI.5. Temporal course of mean height, basal diameter and number of leaves of *H. diplandra* tussocks (mixture of individuals from the two subpopulations B and A) planted on bare soil plots in the high nitrification site (B) in late April 1995. N=8 and bars are standard errors. For each date, significant differences between subpopulations are indicated by *.

Discussion

In Lamto, several characteristics of the whole grass layer were found to significantly differ between high- and low-nitrification sites. In particular, aboveground primary production and shoot:root ratio were both two-fold higher in low-nitrification than in high-nitrification sites (Lata *et al.*, 1999b). This suggests (i) higher nitrogen availability in low nitrification sites (due to reduced nitrogen losses via leaching or denitrification) which can promote plant growth, and/or (ii) different intrinsic structural/functional characteristics between subpopulations of the major grass species, *H. diplandra*. The present results allow us to (i) characterise differences of some characteristics of *H. diplandra* at individual level between the A and B sites, (ii) test whether these differences still remain when the plants are grown in isolation under similar conditions with a non-limiting nutrient supply, and (iii) to compare plant growth between individuals from the two *H. diplandra* subpopulations grown in mixture, which allows competitive interactions.

Density and characteristics of plants naturally growing in high- and low-nitrification sites

The low nitrification site exhibited a higher specific diversity than the high nitrification site (Table VI.1). However, this result was due to differences in the occurrence and densities of secondary species that represented a small fraction of the herbaceous biomass. Actually, *H. diplandra* represented 80 % and 85 % of the whole herbaceous biomass in A and B sites, respectively. Because the tuft densities of this species were not significantly different between the two sites (Table VI.1), the two-fold increase in above-ground primary production observed in A sites as compared to B sites (Lata *et al.*, 1999b) could only be due to

differences in individual tuft primary production. Tuft size indices such as mean height, basal diameter and number of leaves measured at the same time (i.e. 4 months after fire occurrence) on both sites were used in this study to provide non-destructive estimates of aboveground tuft growth and production.

Height and tuft basal diameter of *H. diplandra* were significantly higher in low than in high nitrification sites (Table VI.2). The total number of leaves per *H. diplandra* tussock was three-fold higher in low than in high nitrification sites. Given that individual leaf surface was not significantly different between the two sites, total leaf area of *H. diplandra* tussocks was thus also three-fold higher in low than in high nitrification sites. However, differences of tuft size observed between the two sites did not affect tuft shape (Figure VI.3).

The results obtained from field observations thus show that the higher aboveground primary production observed in low- than in high-nitrification sites actually resulted from a higher production at the individual tuft level. The greenhouse experiment allowed one to test whether the higher productivity of individuals growing on the low-nitrification site was only due to particular environmental conditions such as soil nutrient availability, or to intrinsic growth characteristics differing between the two subpopulations (the two hypotheses are not exclusive).

Characteristics of *H. diplandra* individuals from the two subpopulations grown in greenhouse without neighbouring effect

When grown under similar greenhouse conditions and with a non-limiting nutrient supply, individuals from the low nitrification site presented higher tussock height (+85%) and thalli increment rate (+240%) than individuals from the high nitrification site (Table VI.3). Essentially due to the higher thalli increment rate, the number of leaves per individual tussock

was three-fold higher in low than in high nitrification sites. Given that individual leaf surface was not significantly different between individuals from the two sites, total leaf area per tussock was thus three-fold higher for individuals from the low than high nitrification sites. This result is consistent with the *in situ* observations.

In contrast, light-saturated photosynthetic rate per unit leaf surface was not significantly different between individuals from the two sites (Table VI.3). The values of leaf maximum photosynthesis obtained under greenhouse conditions (21-23 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) were close to values previously reported for *Hyparrhenia diplandra* in the field in Lamto (18 to 33 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} according to Le Roux and Mordelet, 1995) and for several C_4 savanna grasses under greenhouse conditions (26 to 32 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1} according to Baruch *et al*., 1985). Photosynthetic nitrogen use efficiency was also similar between individuals from the two sites. The value obtained in the present study (24-25 μmol CO_2 g N^{-1} s^{-1}) is consistent with values reported by Le Roux and Mordelet (1995) (25.1 μmol CO_2 gN^{-1} s^{-1}) and by Baruch *et al*. (1985) (29.6 to 40.3 μmol CO_2 gN^{-1} s^{-1}).

The results obtained under greenhouse conditions thus show that the high primary production rate per tussock for *H. diplandra* individuals from the low nitrification site was not due to particularly high photosynthetic rate per unit leaf surface nor to high individual leaf surface, but essentially results from a tillering rate three-fold higher than that observed on individuals from the high nitrification site. In addition to the fact that individuals from the low nitrification site were taller than individuals from the high nitrification site, the three-fold higher total leaf area per tussock observed in the formers could greatly enhance their competitive ability for light resource. This could be tested from the results of the cross plots experiment.

Growth of *H. diplandra* individuals from the two subpopulations grown in mixture on bare soil plots

One year after transplantation, the tuft height, basal diameter and total number of leaves were not significantly different between individuals from the two subpopulations. However, tuft size indices of individuals from the site B subpopulation drastically decreased in 1997 – 1998, while tuft size indices of individuals from the site A subpopulation remained stable (Figures VI.4 and VI.5). Thus, this result showed that when grown in mixture, *H. diplandra* from the low nitrification site grew better than individuals from the site B. Although no direct measurements of light interception by tufts from the two subpopulations were made, the differences in tuft height and total number of leaves between individuals from the two subpopulations likely resulted in a strongly asymmetric competition for the light resource. Because soil potential nitrification was strongly modified by individuals from the low- vs. high-nitrification sites even only one year after transplantation (Lata *et al*., 1999b), the individuals from the two subpopulations could experience different soil nutrient availability even when transplanted on a given soil type. Thus, although the potential importance of below ground processes cannot be neglected, our results strongly suggested that competition for the light resource probably had a major role in determining the different growth rate of individuals of the two subpopulations in mixed conditions.

Conclusion

In this study, we showed that the two subpopulations of the dominant grass species *H. diplandra* previously defined from their ability or inability to inhibit nitrification (Lata *et al*., 1999b) do exhibit different intrinsic growth characteristics that result in higher tuft height,

basal diameter and total leaf surface for individuals that are inefficient for inhibiting nitrification. Thus, our results support the hypothesis that the higher primary production observed in low- than in high-nitrification sites is at least partly due to a better, intrinsic growth pattern after fire allowing individuals from the A sites to better exploit the light resource, particularly during the early growing season. However, this hypothesis does not exclude the existence of differences in nutrient availability of the two sites, and further studies are needed in order to directly test whether these differences exist between A and B sites, and the potential role at long term of such different nutrient availability on grass growth in the field. At least, understanding how two *H. diplandra* subpopulations strongly differing in growth characteristics can coexist in Lamto savannas will imply to study not only their response to nutrient supply, but also to other major constraints such as fire and herbivory.

Acknowledgements

We thank D. Aïdara (President of the Abobo-Adjamé University), N. Salin, R. Vuattoux, E. Kouassi Kouassi, F. Kouamé N'Guessan, P. Savadogo Sadare, K. Guillaume, A. Gonzalez and S. Barot for assistance. This work was supported by grants from the CNRS (SALT-IGBP/GCTE Core Research Program and Programme National Sol et Erosion (PNSE)).

«The goal (and the challenge) of landscape ecology, is to explore the richness of basic and applied problems and insights that are contained within the terms "heterogeneity" and "scale". Variations in patch quality give heterogeneity a spatial texture, and interactions among patches give heterogeneity a weave that produces the distinctive patterns of the tapestry of landscapes.»

J.A. Wiens, 1999

CHAPITRE VII: DISCUSSION GENERALE, PERSPECTIVES ET EVALUATION DE LEUR FAISABILITE

DISCUSSION GENERALE

Lamto peut donc être considéré, au vu des résultats de ce travail, comme un écosystème intégrant de façon stable, deux types de fonctionnement tranchés (Figure VII.1), au sein desquels plusieurs acteurs interagissent: **le sol** *via* son fonctionnement microbien et donc sa dynamique des nutriments, les sous-populations de la Graminée pérenne ***Hyparrhenia diplandra*** *via* leur rôle dans le contrôle de la nitrification, et **le couvert végétal** dans son ensemble *via* sa production primaire, sa diversité et la coexistence des populations et sous-populations de Graminées.

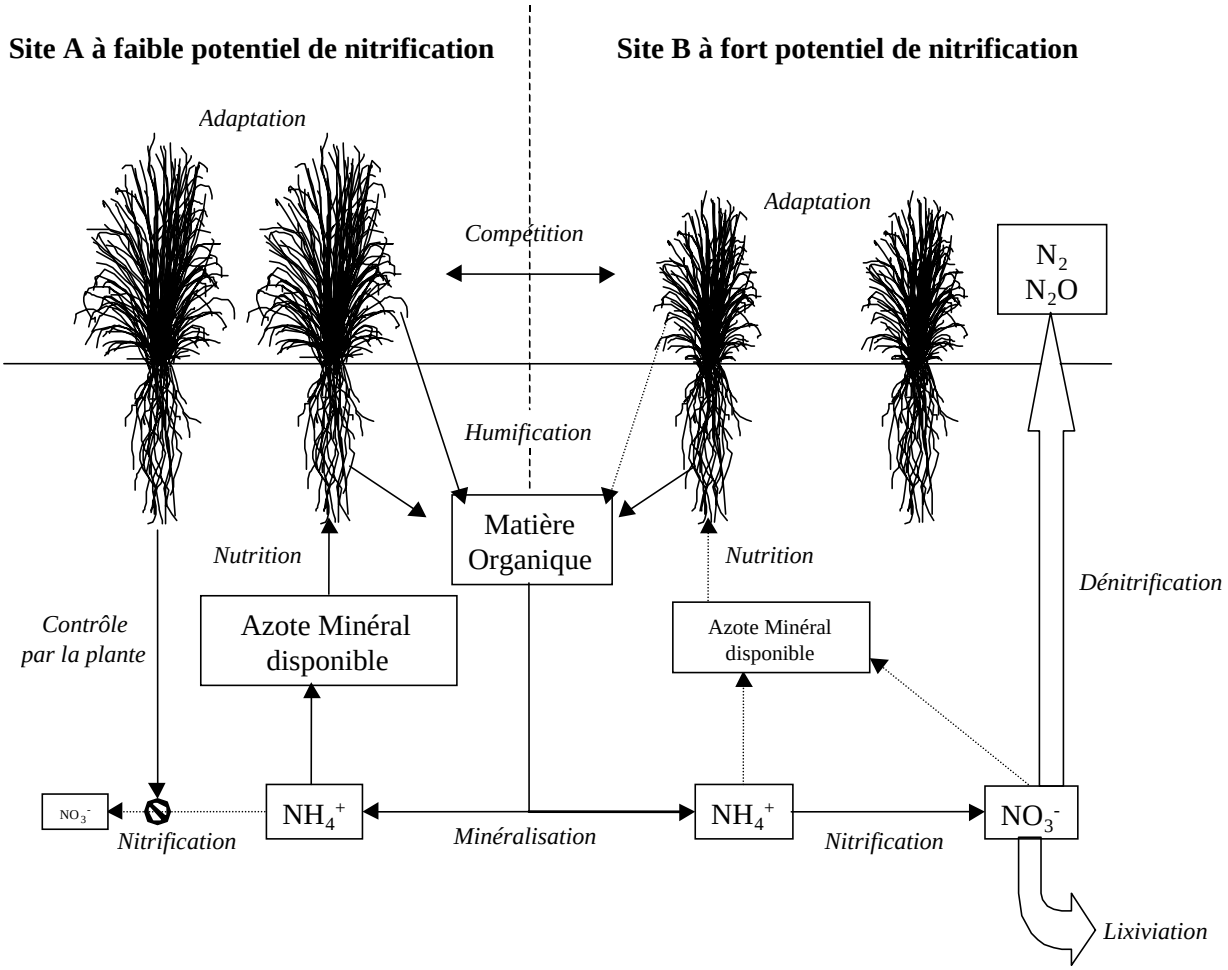


Figure VII.1: Les deux systèmes possibles du cycle de l'azote dans les sols de Lamto, centrés autour du potentiel de nitrification. Les processus sont en italique; les flèches en pointillés représentent les flux de faible intensité par rapport aux flèches pleines; les flèches larges représentent les voies de pertes potentielles d'azote pour l'écosystème.

1. DEUX SYSTEMES STABLES DANS UN MEME ÉCOSYSTÈME

Les deux systèmes au centre de cette étude (sites à faible et fort taux de nitrification) présentent une stabilité temporelle dans chacun des trois compartiments cités ci-dessus (le sol, *Hyparrhenia diplandra* et le couvert végétal).

En effet, **pour le sol**, les différences entre sites concernant le potentiel de nitrification se sont maintenues pendant les quatre années de ce travail. Si l'on ajoute les données de la première campagne (Mai 1992, *in* Le Roux *et al*., 1995), cela porte la durée totale à six années. Les principales caractéristiques physico-chimiques des sols se sont, quant à elles, révélées identiques et stables entre les deux sites pendant la durée de l'étude (**Chapitres III, IV**).

Pour *H. diplandra* et **le couvert végétal**, les différences (ou ressemblances) observées ***in situ*** entre les deux systèmes se sont aussi maintenues pendant la durée de l'étude (**Chapitre VI**). Ces caractéristiques concernaient la production primaire, la composition spécifique des espèces, la diversité spécifique et différentes caractéristiques d'*H. diplandra* (dont l'activité nitrate réductase *potentielle*) (**Chapitres III, VI**).

On peut donc suggérer que les sous-populations d'*Hyparrhenia diplandra* soient *adaptées* à leur milieu, en l'occurrence à une disponibilité différente du substrat azoté. Cette adaptation, qui a peu de chance d'avoir été rapide (les touffes d'*H. diplandra* vivant plusieurs décennies et se reproduisant en grande majorité de façon asexuée), va donc dans le sens de **l'équilibre à long terme de chacun des deux systèmes (sites à faible et fort potentiel de nitrification)**. Cette stabilité de chacun des systèmes ne peut cependant pas augurer de ce qui pourrait advenir lorsque les deux systèmes s'affrontent. On rentre alors dans des problématiques de dynamique "inter-systèmes" (voir paragraphe **3.** ci-dessous).

2. DEUX SYSTEMES RADICALEMENT OPPOSÉS

Le second point de convergence entre les différents résultats de cette étude est le caractère tranché des deux systèmes. En effet, même si on observe une grande hétérogénéité pour toutes les variables étudiées, et plus généralement pour tout processus pris en compte dans un écosystème complexe comme celui de la savane de Lamto, les différences observées entre les deux systèmes sont souvent très importantes, suffisamment pour clairement les différencier. Les meilleurs exemples en sont la biomasse aérienne et la couverture totale au sol du couvert végétal (**Chapitre V**), respectivement deux et cinq fois supérieures en site non nitrifiant (A) qu'en site nitrifiant (B): ces différences sont visibles à l'œil nu (Photos 10, 11 – Annexe 1), et pourraient d'ailleurs être considérées comme des indices de reconnaissance *in situ* des deux systèmes. Le potentiel de nitrification moyen dans **le sol** est 240 fois supérieur en site A (**Chapitre III**). Les potentiels d'activité de la nitrate réductase sont 4 fois supérieurs pour la sous-population d'***H. diplandra*** provenant du site B (**Chapitre III**). Les principales caractéristiques phénotypiques de taille des ***H. diplandra*** et d'autres espèces du site A (hauteur, diamètre, nombre de feuilles et volume total des individus touffes), ainsi que le ratio biomasse épigée / biomasse hypogée et les indices de diversité spécifique du **couvert végétal,** sont en moyenne entre deux et trois fois supérieurs aux valeurs de ces même variables dans le site B (**Chapitres V, VI**).

La très forte structuration de la savane de Lamto (décrite dans la partie bibliographique) confère à cet écosystème un statut de modèle d'étude de la régulation des processus microbiens et de la dynamique des communautés fonctionnelles correspondantes. On peut en effet raisonner soit en termes de **gradients** soit d'une **manière binaire** (et donc extrême, ex: **1:** sous l'individu plante et **0:** en sol nu). La mise en évidence de deux fonctionnements très contrastés à l'intérieur d'un même faciès met à notre disposition une

nouvelle échelle de structuration et renforce donc la qualité de ce modèle. Ceci nous a notamment permis de réaliser les objectifs que nous nous étions fixés, à savoir **l'étude du déterminisme de la nitrification dans cet écosystème et, en particulier, le rôle du couvert végétal**.

3. DYNAMIQUE DES DEUX SYSTÈMES

Deux questions issues de la comparaison dynamique des deux système ont été présentes en filigrane tout au long de cette étude, essentiellement: **(1) quelle est la part de responsabilité des végétaux (plus particulièrement *H. diplandra*) et des organismes nitrifiants dans l'équilibre des processus observés?** et **(2) un système est-il plus "performant" que l'autre, et que se passerait-t-il en cas de confrontation?**

(1) En d'autres termes, peut-on "décider" d'un sens de causalité privilégié dans l'interaction *H. diplandra* / nitrification? On a montré ici l'influence directe d'*H. diplandra* sur la nitrification *via* sa rhizosphère. Le fait que cette influence soit opposée en fonction du sol est dû à l'existence de deux *sous-populations* d'*H. diplandra* (provenant de l'un ou l'autre site). Cependant, ces sous-populations diffèrent aussi de façon stable pour d'autres critères comme le taille et la croissance des touffes, ou l'activité enzymatique liée à la nutrition azotée, de même que le couvert végétal dans son ensemble diffère entre sites pour la production primaire, la couverture totale au sol et la diversité. Il nous reste donc à déterminer si ces différences proviennent d'une différence d'accessibilité à l'azote (notre hypothèse la plus forte) causée par des statuts nitrifiants différents, ou de différences intrinsèques des plantes.

(2) On l'a vu, les deux systèmes semblant équilibrés, rien ne prouve *a priori* que l'un des deux *devrait* être plus "compétitif", à savoir une sous-population d'*H. diplandra* qui

exclurait l'autre et imposerait donc un système unique où la nitrification serait présente ou absente. Dans un cadre plus général de l'évolution passée et future de ces systèmes à Lamto, **trois hypothèses existent**: (**i**) soit les sites de type nitrifiant (considérés comme rares par rapport à la "norme" de faible nitrification) sont résiduels et disparaissent actuellement parce que moins performant du fait d'une moins bonne accessibilité à l'azote, (**ii**) soit ils sont apparus récemment par un changement des populations ou de l'activité (par mutation) des micro-organismes nitrifiants et les plantes se seraient adaptées en conséquence, (**iii**) soit enfin il y a eu cohabitation sur le long terme des deux systèmes, par co-évolution des plantes et des nitrifiants.

Rien ne permet de trancher définitivement entre ces trois hypothèses. Cependant deux résultats suggèrent que les sites de type nitrifiant soient des systèmes moins "performants" en termes de conservation de la ressource azote, et donc ne pourraient se maintenir à long terme en cas de confrontation: (**i**) les moindres indices de production, de diversité spécifique et de croissance du couvert en site B ainsi que la stabilité de ces différences, et (**ii**) les expériences de mixité d'individus *H. diplandra* en conditions identiques (même sol, **Chapitre VI**) qui semblent montrer que la sous-population du site B est moins bonne compétitrice (de par un moindre accès à la lumière).

4. DU MICRO-ORGANISME A L'ÉCOSYSTÈME: NÉCESSITÉ D'UNE DÉMARCHE INTÉGRATRICE A PLUSIEURS ÉCHELLES

En écologie en général, mais plus particulièrement dans des écosystèmes structurés et fortement hétérogènes comme Lamto, une des tâches les plus ardues consiste à réunir les observations et résultats expérimentaux en un tout homogène et intégrant les différentes échelles pertinentes pour la compréhension des processus que l'on souhaite décrire. Comme

on ne peut travailler sans fragmenter et dissocier les composantes de l'écosystème, une des premières étapes du travail doit définir quelles sont ces échelles pertinentes. Dans notre travail, **4 échelles spatiales** ont été abordées: l'échelle de la parcelle, l'échelle de la sous-population végétale, l'échelle de l'individu végétal et l'échelle décimétrique au niveau du sol. L'échelle temporelle a également été intégrée. Chaque échelle s'est révélée pertinente, puisqu'elle a permis d'extraire des informations originales et différentes:

A l'échelle de la parcelle, les potentiels de nitrification et certaines caractéristiques du couvert diffèrent entre les deux sites;

A l'échelle de la sous-population végétale, on a pu discerner pour *H. diplandra* une capacité à inhiber ou non la nitrification, un potentiel différent d'expression de l'enzyme nitrate réductase, et certaines caractéristiques d'*H. diplandra* divergentes entre les deux sous-populations;

A l'échelle de l'individu plante, on a observé des corrélations entre les processus d'inhibition/stimulation de la nitrification et les indices de taille de l'individu;

A l'échelle décimétrique, on a observé une corrélation fine entre la densité racinaire et les phénomènes d'inhibition/stimulation de la nitrification.

Cela indique, d'une part que l'on ne peut se contenter d'une seule échelle d'observation, et d'autre part que si toutes les échelles se sont révélées pertinentes, d'autres échelles doivent probablement être également prises en compte. En particulier, l'échelle du micro-organisme (par exemple les compartiments micro-structuraux du sol) devrait être intégrée à cette problématique.

L'écosystème Lamto peut donc être vu, *via* le processus de nitrification, comme un écosystème hétérogène structuré en taches, avec une succession d'emboîtements d'échelles, de l'écosystème jusqu'au micro-organisme (Figure VII.2). Les interactions régissant ces différents compartiments doivent être considérées: (**i**) comme potentiellement différentes

suivant le sens d'emboîtement des échelles (du haut vers le bas ou inversement); (**ii**) comme pouvant impliquer des emboîtements de différentes échelles non forcément successives (par exemple de la population de micro-organismes nitrifiants vers le budget en azote de l'écosystème).

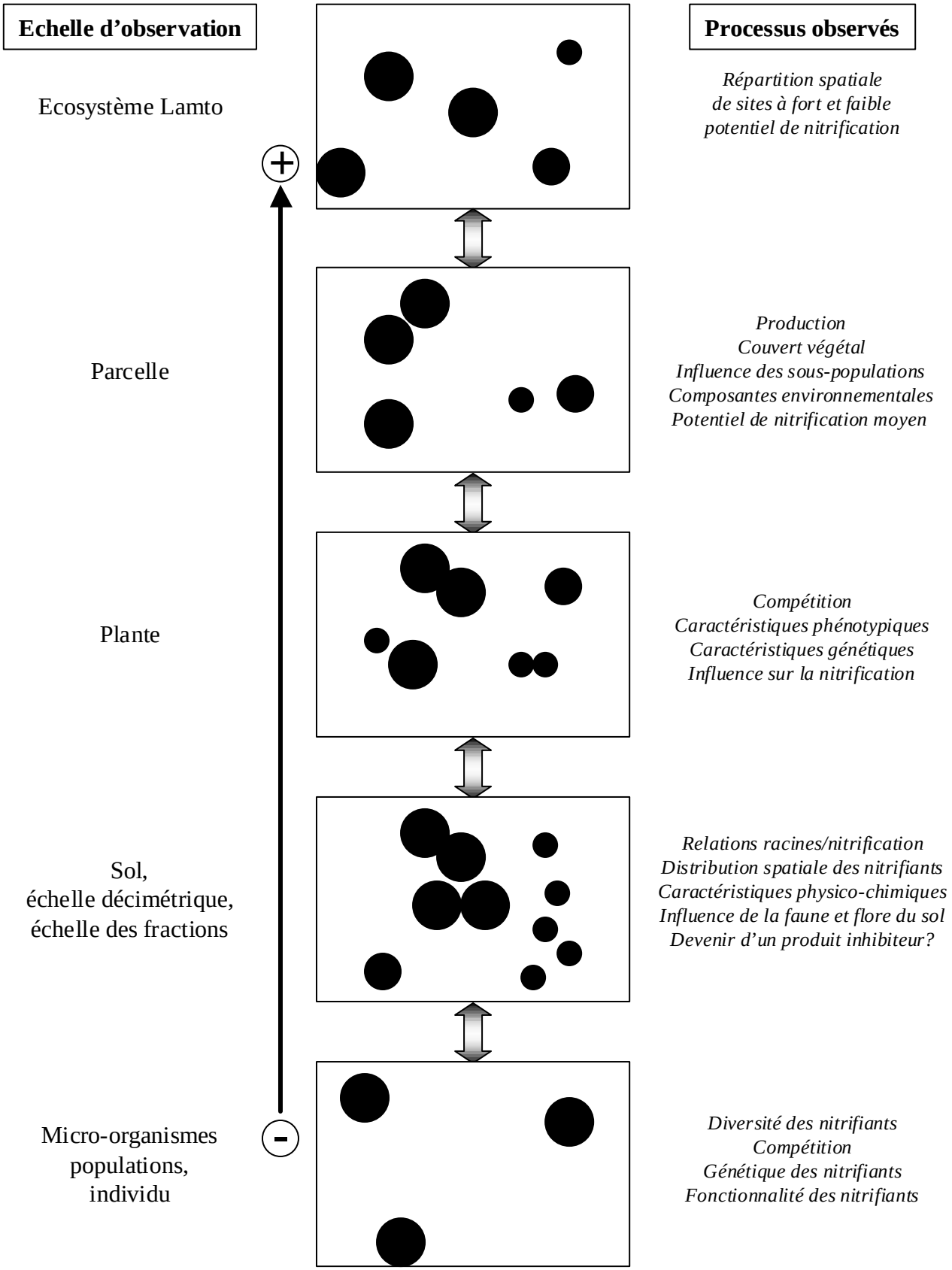


Figure VII.2: L'écosystème Lamto vu *via* le processus de nitrification. Exemples d'emboîtements d'échelles et des processus associés.

PERSPECTIVES
EVALUATION DE LEUR PERTINENCE
ET/OU DE LEUR FAISABILITE

Ce dernier chapitre vise à proposer des pistes pouvant aboutir à de futures recherches. Pour la plupart des aspects abordés, des expériences ont déjà été initiées et servent de base pour évaluer la pertinence et/ou la faisabilité des études proposées. Ces expériences sont succinctement décrites (en italique dans le texte).

1. HETEROGENEITE SPATIALE ET TEMPORELLE DU PROCESSUS DE NITRIFICATION

S'il a été montré que la présence d'*H. diplandra*, en fonction de l'écotype considéré, était un élément majeur de la régulation de la nitrification, une variabilité spatiale "intra-site" de ce processus a néanmoins été observée dans les deux sites (avec des coefficients de variation similaires) (**Chapitre III**). Des travaux complémentaires devront donc porter sur l'analyse de cette variabilité spatiale intra-site, complétée par une analyse de la variabilité temporelle (saisonnière) de la nitrification à Lamto. Trois axes de recherche peuvent donc être proposés:

1.1 Etude de la variabilité spatiale intra-site (que l'on pourra tenter de mettre en relation avec la variabilité spatiale de facteurs autres que la présence des deux écotypes d'*H. diplandra* – voir 1.3)

L'outil géostatistique pourrait se révéler précieux pour étudier les interactions entre le processus de nitrification et les facteurs environnementaux supposés influencer ce processus

(Grundmann, 1990; Jackson & Caldwell, 1993). L'étude envisagée devra intégrer plusieurs échelles: celle de la parcelle (voir **Chapitre III**), celle du mètre, celle de la plante (voir **Chapitre IV** et **V**) et celle plus fine des micro-hétérogénéités structurales colonisées par les micro-organismes. Cette dernière échelle pourrait faire l'objet, dans les sols des deux sites, d'une analyse de la répartition du potentiel de nitrification suivant les fractions granulométriques (Nacro, 1997).

Une expérience préliminaire, portant sur des transects perpendiculaires dans le site nitrifiant B *(Figure VII.3), montre qu'à l'échelle du mètre on peut trouver des variations relativement importantes entre des échantillons hors touffes distants de seulement deux mètres. Rien ne semble expliquer simplement l'hétérogénéité observée, mais ce résultat incite fortement à approfondir cette voie d'étude en utilisant différentes échelles d'analyse.*

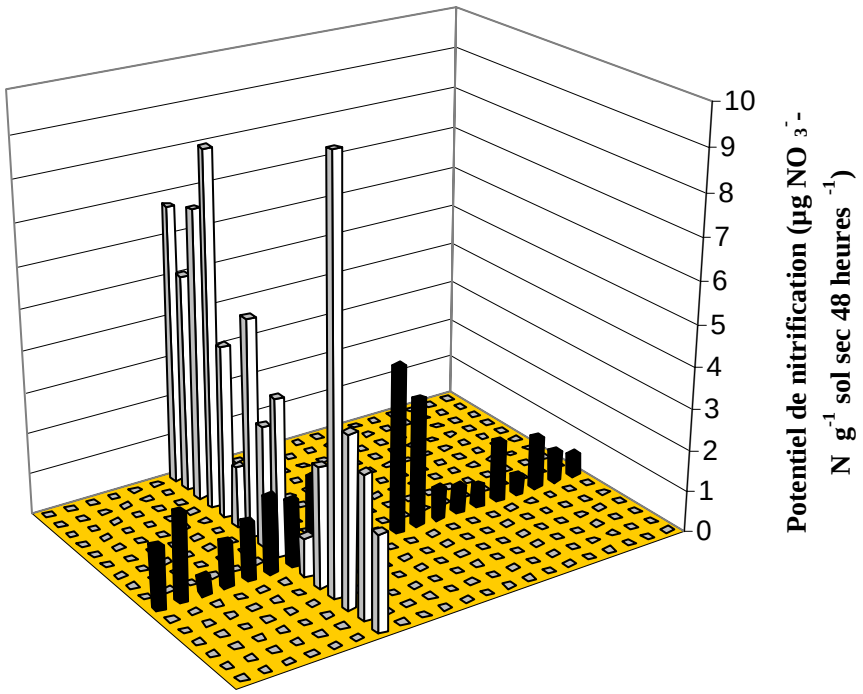


Figure VII.3: Potentiel de nitrification le long de transects dans le site nitrifiant B. Les valeurs sont issues de prélèvements hors touffes de Graminées, distants deux à deux de deux mètres.

1.2 Etude de la variabilité temporelle (saisonnière) de la nitrification dans chaque site

L'évaluation du potentiel de nitrification par la méthode utilisée dans notre travail (Lensi *et al.*, 1986) est censée s'affranchir des variations climatiques à court terme. Il pourrait être intéressant de vérifier ce présupposé à une échelle temporelle saisonnière, c'est à dire en prenant essentiellement en compte les variations annuelles et inter-annuelles de température et d'humidité du sol. Un suivi saisonnier devrait être établi à long terme.

Un suivi saisonnier a été initié dans les deux sites *pendant quatre années, avec des prélèvements aléatoires hors et sous touffes d'*H. diplandra*, ainsi que dans une parcelle laissée artificiellement nue (Photo 12 – Annexe 1). Des résultats préliminaires (sur un faible nombre d'échantillons) sont présentés dans la Figure VII.4.*

Les différences entre les deux sites semblent conservées pendant toute la période d'étude, confirmant la stabilité des deux systèmes. Des fluctuations sont observées entre chaque campagne de mesure, mais leur variabilité fait que rien de significatif ne peut être avancé concernant une influence saisonnière sur la nitrification.

Ces résultats montrent qu'il devrait être intéressant de mener une campagne de prélèvements réguliers, si possible corrélée aux données climatiques en s'efforçant de maintenir les autres facteurs constants et, en particulier, un passage annuel du feu identique en date et intensité, donc contrôlé, entre les deux sites.

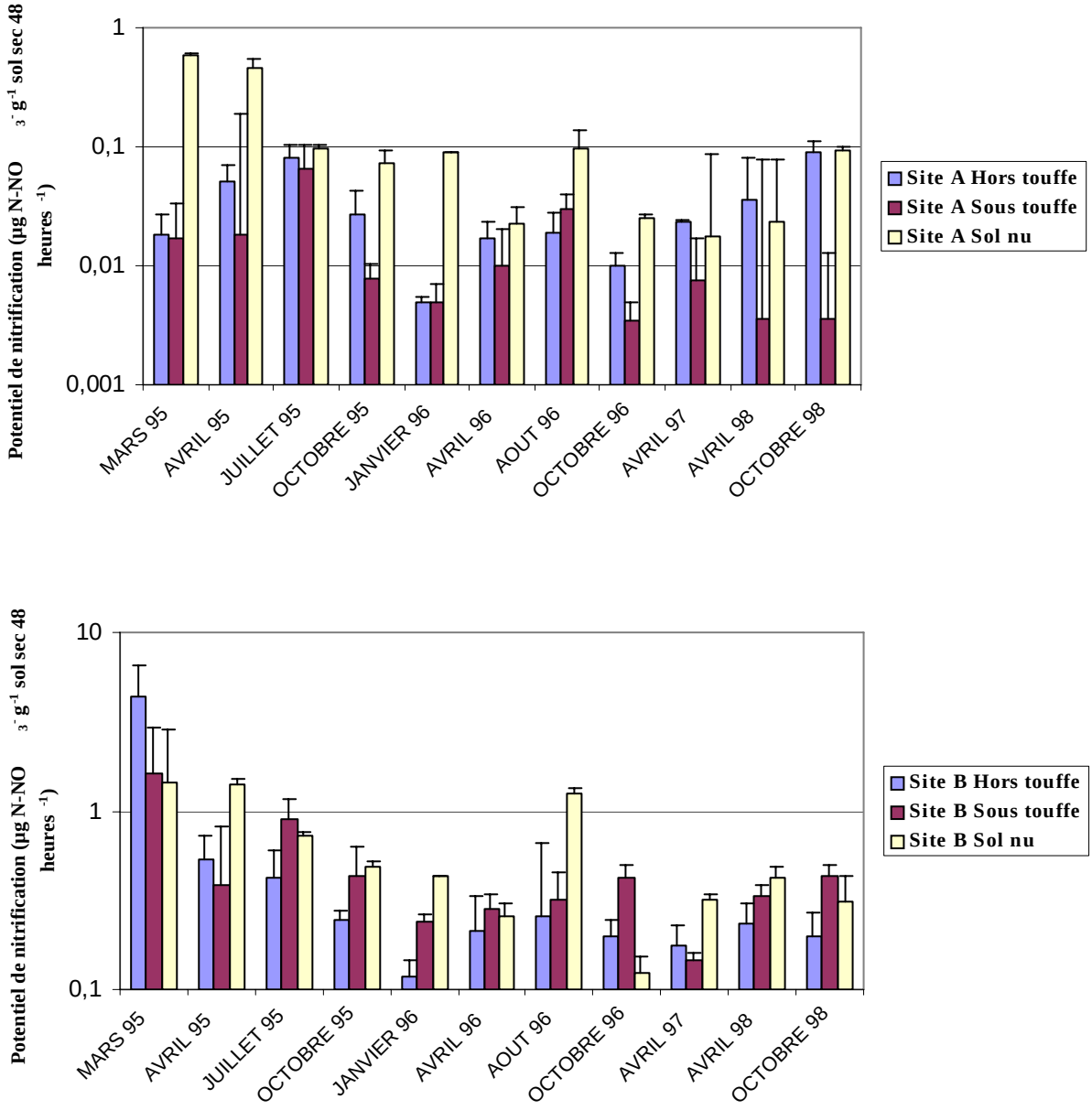


Figure VII.4: Variations saisonnières du potentiel de nitrification dans les deux sites, suivant des prélèvements hors et sous touffe d'*H. diplandra*, ainsi que dans une parcelle laissée artificiellement nue (Photo 12 – Annexe 1). Les barres d'erreur représentent les écarts-types.

1.3 Influence des hétérogénéités environnementales apparentes de l'écosystème Lamto sur la variabilité spatiale de la nitrification

Les éléments environnementaux les plus structurants de l'écosystème doivent être considérés en priorité: (1) les termitières (lieux de remaniements profonds du sol (Konaté, 1998)); (2) le passage du feu (facteur déterminant dans la savane puisqu'il détruit la plus grande partie du couvert herbacé) (3) les arbustes, arbres et touffes de Graminées pérennes autres qu'*H. diplandra*.

Une expérience préliminaire s'est intéressée au problème du feu. *Quelques prélèvements effectués 15 jours avant et après le passage du feu semblent montrer qu'il y aurait un effet positif de ce feu sur le potentiel de nitrification dans les deux sites (Figure VII.5), que l'on considère les prélèvements hors-touffe, sous-touffe ou en sol nu.*

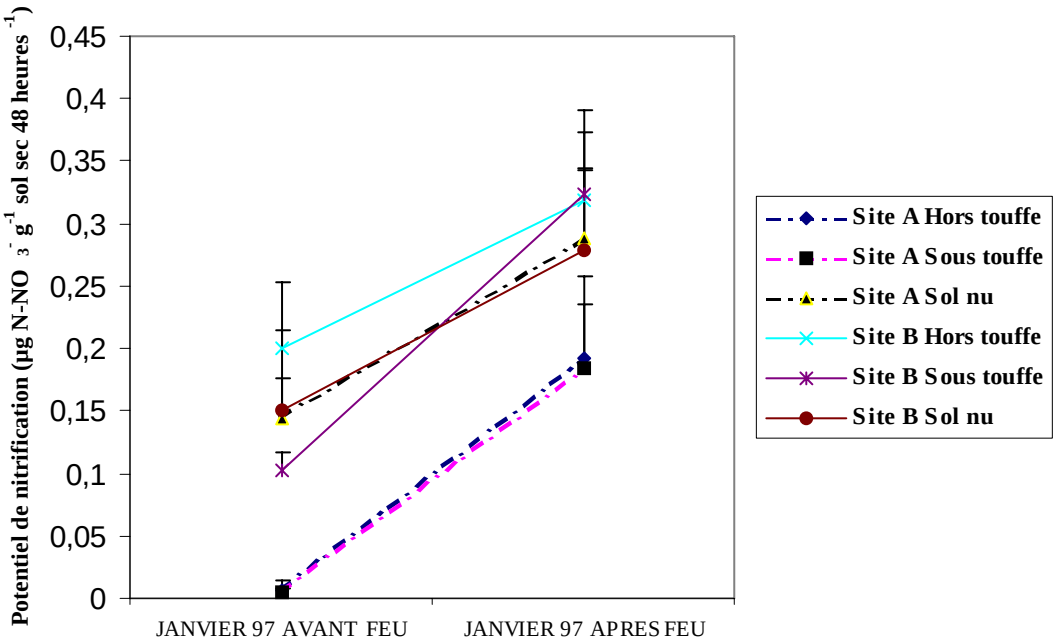


Figure VII.5: Variations du potentiel de nitrification dans les deux sites, suivant des prélèvements hors et sous touffe d'*H. diplandra*, ainsi que dans une parcelle laissée artificiellement nue (sans couverture végétale), 15 jours avant et après le passage du feu. N= 5 pour chaque point.

D'autres résultats préliminaires, sur de petits transects à partir de la base des troncs de quelques espèces de ligneux *(un seul individu par espèce)* ***ou du centre des buttes termitiques****, montrent, dans les deux sites, un effet positif très important de ces éléments sur le potentiel de nitrification (jusqu'à 120 cm de la base du tronc pour les arbres) (Figure VII.6 et VII.7).*

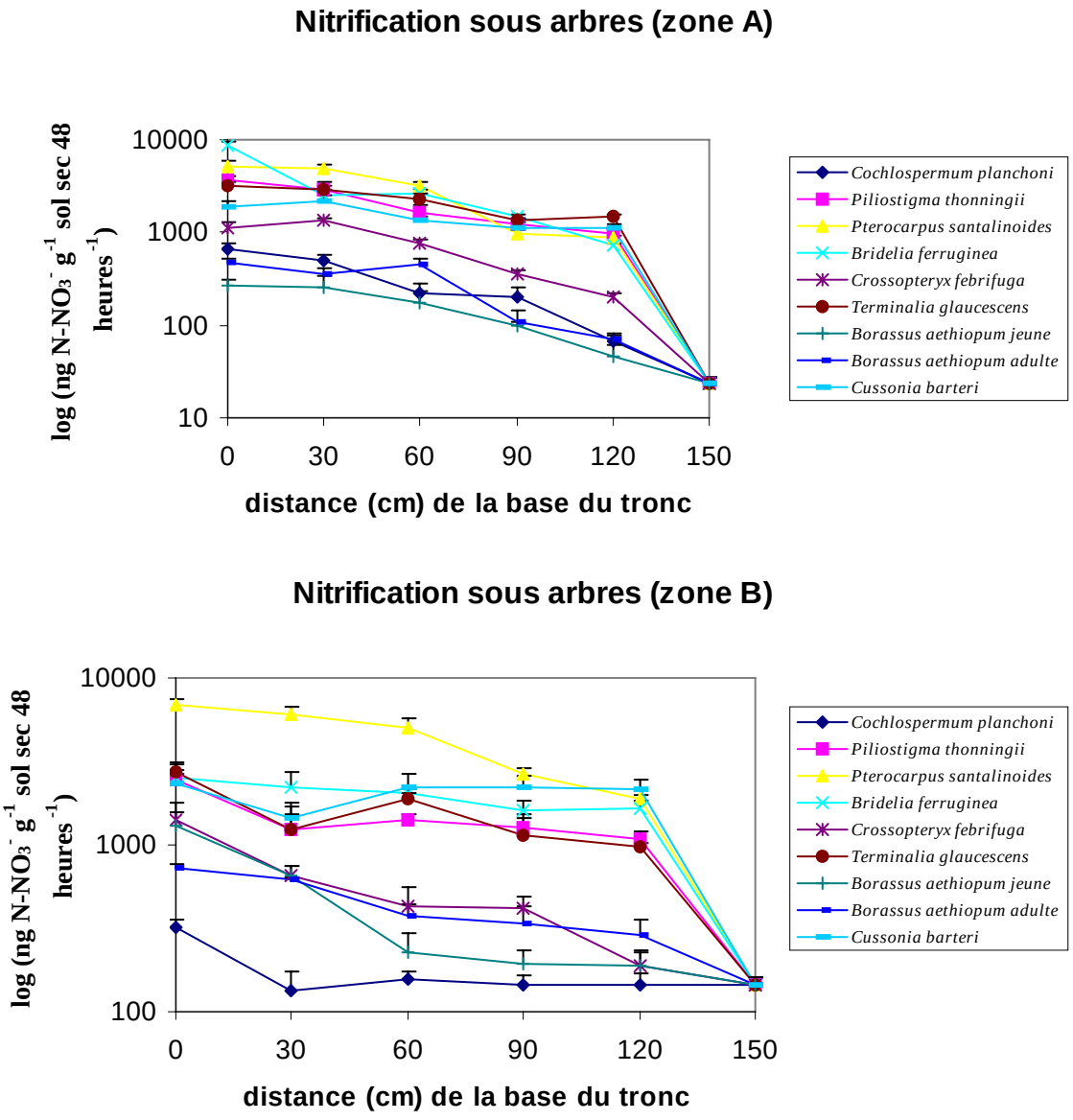


Figure VII.6: Variations du potentiel de nitrification dans les deux sites, suivant des prélèvements en transects à partir de la base des troncs de différentes espèces de ligneux. N=3 pour chaque point, 1 individu par espèce. Les barres d'erreur représentent les écarts-types.

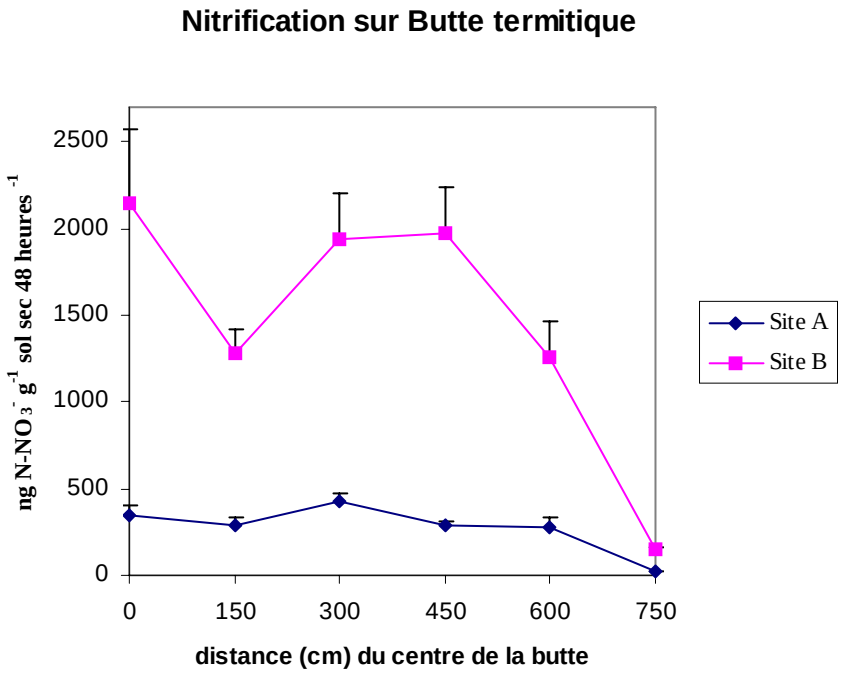


Figure VII.7: Variations du potentiel de nitrification dans les deux sites, suivant des prélèvements en transects à partir du centre de buttes termitiques épigées. N=3 pour chaque point, 1 butte par site. Les barres d'erreur représentent les écarts-types.

Ces deux sources d'hétérogénéité (à court terme pour le feu et à long terme pour les arbres et les buttes) semblent donc jouer un rôle suffisamment important à Lamto dans le contrôle du processus de nitrification pour qu'une campagne de mesures soit initiée.

2. ETUDE DU MECANISME D'INHIBITION DE LA NITRIFICATION

Le mécanisme d'inhibition de la nitrification par *H. diplandra* reste à élucider. L'hypothèse allélopathique semble la plus vraisemblable: la sous-population *H. diplandra* du site non nitrifiant (A) serait la seule à posséder la capacité d'exsuder des substances inhibitrices des nitrifiants *via* son système racinaire. Une série de perspectives peut être proposée, d'une part pour tester la validité cette l'hypothèse et, d'autre part pour identifier

(les) l'éventuel(s) médiateur(s) chimique(s) responsable(s) de l'inhibition et son (leur) mode(s) d'action:

2.1 Vérifier qu'une inhibition du processus de nitrification peut être obtenue en mettant des extraits de sol non nitrifiant ou de racines d'*H. diplandra* provenant du site non nitrifiant au contact soit du sol nitrifiant, soit de souches de micro-organismes nitrifiants en milieu synthétique.

Une expérience préliminaire a permis de renforcer l'hypothèse allélopathique de l'inhibition de la nitrification. *Nous avons mélangé en différentes proportions en laboratoire des sols provenant des deux sites. L'étude du potentiel de nitrification sur chacune des proportions montre (Figure VII.8) qu'il suffit de 12,5% (valeur minimale étudiée) du sol du site A pour avoir un taux de nitrification extrêmement faible et équivalent au potentiel de 100% de sol du site A.*

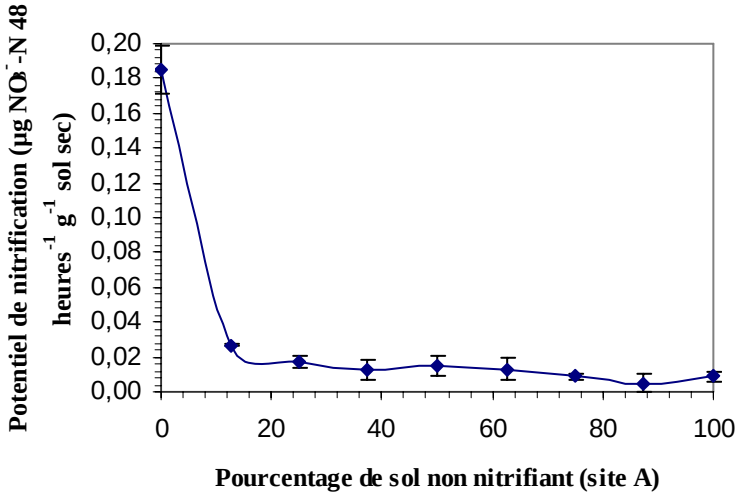


Figure VII.8: Variations du potentiel de nitrification suivant différentes proportions de sols provenant des deux sites A et B. *n*=3 pour chaque point. Les barres d'erreur représentent les écarts-types.

Cette constatation va dans le sens de la présence dans le sol du site A d'un médiateur chimique stable, puissant et très certainement hydrosoluble. Les futures recherches pourraient s'appuyer sur les travaux déjà existants détaillant des potentiels allélopathiques chez des plantes voisines, comme les acides phénoliques chez le sorgho (Einhellig & Leather, 1988; Weston *et al.*, 1989).

2.2 Initier la recherche du (des) médiateur(s) chimiques(s) responsable(s) de l'inhibition en comparant la composition en composés lipophiles et hydrophiles d'extraits de sols, de germinations ou de racines adultes d'*H. diplandra* des deux sites.

Des comparaisons des chromatogrammes *obtenus par détection UV-visible* ***des extraits hydrophiles et lipophiles de germinations de graines*** *issues des deux écotypes d'*H. diplandra *ont d'ores et déjà permis de mettre en évidence des différences significatives et reproductibles entre écotypes.*

Cependant, ces expériences préliminaires doivent être reconduites et complétées par l'établissement des spectres UV de chacun des composés présents dans ces extraits.

2.3 Déterminer quelle(s) composante(s) fonctionnelle(s) de la communauté nitrifiante serai(en)t affectée(s) (densité, fonctionnalité et diversité des nitrifiants).

Pour cela, on se propose de tester les différents extraits (sols, germinations, racines adultes d'*H. diplandra* des deux sites) sur les capacités de croissance et de "fonctionnalité" de souches pures de bactéries nitritantes et nitratantes cultivées en milieu synthétique. Par "fonctionnalité" des micro-organismes, on entend leur capacité à exprimer les gènes

directement responsables des fonctions étudiées (ammonium mono-oxygénase et nitrite oxydo-réductase). Des outils immunologiques associés à des techniques de détection et de quantification par chimioluminescence sont d'ores et déjà disponibles (Coeur *et al*., 1999).

Une technique de MPN-PCR *fondée sur l'utilisation de séquences-cibles situées dans l'ADNr 16S (Degrange & Bardin, 1995)* ***a été appliquée à la détection et au dénombrement des*** **Nitrobacter** *(seul genre nitratant connu dans le sol)* ***dans les sites nitrifiant et non nitrifiant****. Les premiers résultats montrent que ce genre serait présent dans les deux sites à des densités sensiblement égales (7x10^4 bactéries g^{-1} sol sec (Degrange, 1996)).*

Ceci suggère que l'influence d'*H. diplandra* ne porte pas sur la possibilité de survie de souches de *Nitrobacter* dans le sol et oriente les études vers les interactions plantes - diversité et/ou fonctionnalité de la communauté nitratante. Les capacités de survie en conditions d'hétérotrophie des bactéries nitrifiantes (Degrange *et al.,* 1997) pourraient permettre d'expliquer comment ces micro-organismes se maintiennent dans les sols de Lamto où l'accès aux substrats azotés est très faible.

3. PERTES D'AZOTE DES DEUX SYSTEMES A FORT ET FAIBLE TAUX DE NITRIFICATION

Etudier les pertes d'azote est une perspective cruciale: en effet, nous avons toujours émis l'hypothèse que les différences observées touchant les indices phénotypiques et de productivité du couvert herbacé des deux sites pouvaient être dues à une différence de performance de l'écosystème en terme de conservation des nutriments, en faisant l'hypothèse d'une moins bonne accessibilité à la ressource azote du fait de pertes potentielles plus élevée par dénitrification et lixiviation en zone nitrifiante. Les mesures précédentes de potentiel de

dénitrification (Abbadie & Lensi, 1990; Lensi *et al.*, 1992) et de drainage (Villecourt & Roose, 1978) dans les sites non nitrifiants de Lamto ont montré que ces deux processus étaient faiblement exprimés. Il reste maintenant à évaluer l'importance de ces processus en site nitrifiant pour appuyer notre hypothèse de travail.

Des mesures de potentiel de dénitrification dans les deux types de sol (par la technique d'inhibition de la N_2O-réductase par l'acétylène) devront intégrer des prélèvements sous et hors touffe d'*H. diplandra*. Des mesures de potentiel de nitrification effectuées en parallèle permettront de vérifier s'il existe une corrélation significative fine entre les deux potentiels, et si possible de comparer des échantillons possédant un potentiel de nitrification suffisamment varié afin de tester la forme de cette corrélation.

Des mesures préliminaires du potentiel de dénitrification *semblent montrer, sur quelques points, qu'il existe un potentiel de dénitrification non négligeable dans le sol du site B supérieur à celui observé en site A (0,053 ± 0,069 et 0,397 ± 0,288 respectivement pour les sites A et B).*

Enfin, estimer la lixiviation *in situ* devrait être possible grâce à l'emploi de lysimètres. Cependant, les mesures sont longues et le matériel nécessaire risque d'être fragilisé par les conditions de terrain. C'est pourquoi il peut sembler préférable de privilégier une étude fondée sur l'apport d'azote marqué à l'isotope ^{15}N dans les deux sites. Le suivi de l'azote marqué pourrait, de plus, s'avérer pertinent pour comparer l'aptitude des deux sous-populations d'*H. diplandra* à recycler l'azote.

Une étude préliminaire portant sur le devenir de l'azote marqué a été initiée *in situ*. Il a ainsi été apporté, sur une surface de 9 m^2 tirée au hasard dans les deux sites, des quantités données d'azote marqué à l'isotope ^{15}N, à savoir 3,2 g d'azote enrichi à 10 %. Cet apport

s'est fait sous deux formes (KNO_3^- et $(NH_4)_2SO_4$), afin de comparer le devenir des deux formes possibles d'azote: ammonium et nitrate. Au bout de six et douze mois, des échantillons de terre, de racines et de parties épigées des Graminées ont été prélevés au hasard sur chacune des surfaces. L'analyse des échantillons est en cours de réalisation.

4. STABILITE/COMPETITION DES DEUX TYPES DE SYSTEMES: VERS UN SYSTEME DYNAMIQUE

L'utilisation d'observations *in situ* pour postuler sur la dynamique des deux types de systèmes (dynamique des sites à fort et faible potentiel de nitrification dépendant de la dynamique des sous-populations d'*H. diplandra*) constitue le travail le plus ambitieux mais aussi le plus ardu à mener: comment se répartissent ces deux systèmes dans l'écosystème Lamto à un temps t=0? Comment vont-ils évoluer dans le futur et quelles hypothèses peut-on avancer sur leur histoire (Figure VII.9)? En d'autres termes, les deux systèmes vont-ils cohabiter sur le long terme, ou un système va-t-il remplacer l'autre? Le caractère pérenne des Graminées dont la longévité pourrait être supérieure à 50 ans (Garnier, comm. pers.) constitue un frein important à une étude directe (synchronique)**.**

Le concept de sous-population d'*H. diplandra* devra cependant être vérifié en observant jusqu'à quel point les individus provenant des sites A et B diffèrent. Une étude préliminaire, portant sur des marqueurs chromosomiques neutres (micro-satellites, Durand, comm. pers.), montre que l'on n'observe pas de différence entre les individus des deux sites, suggérant qu'ils appartiennent bien à une même espèce.

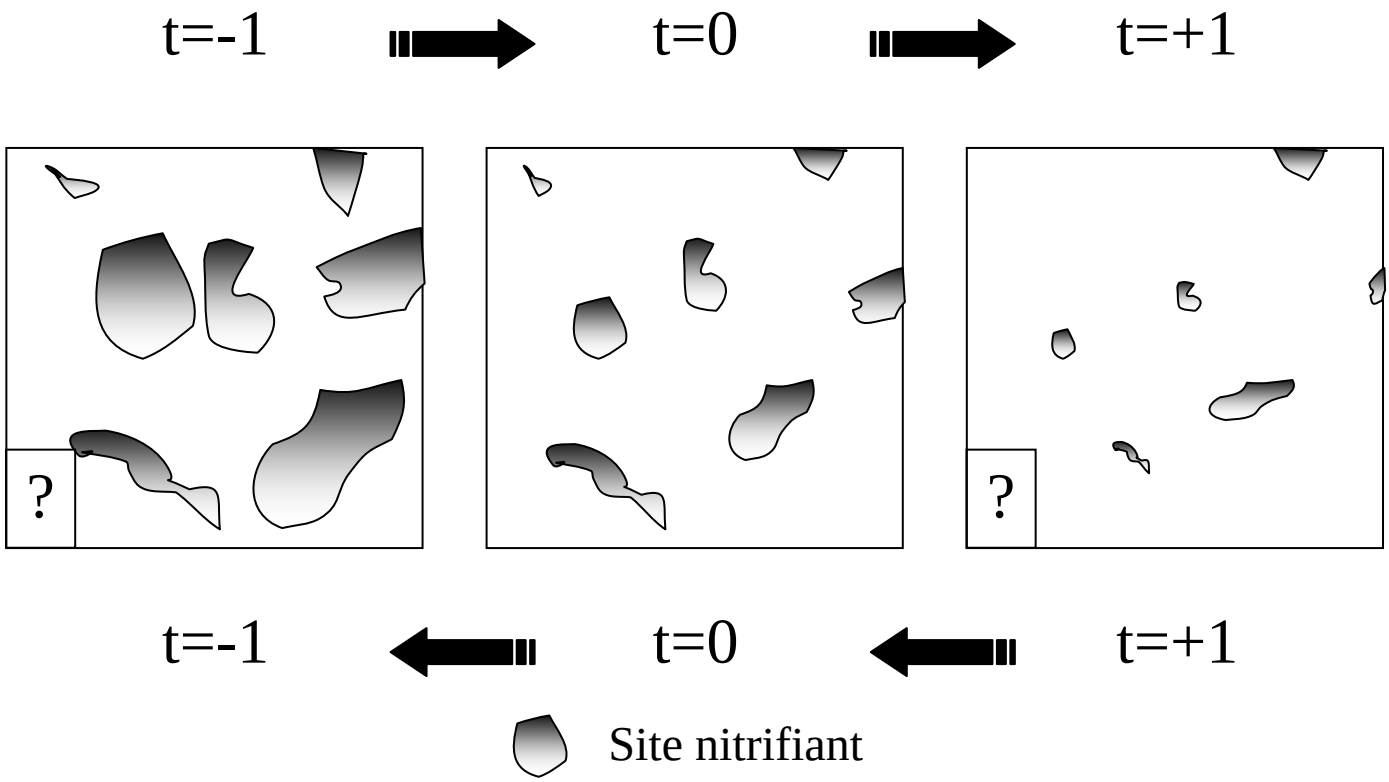


Figure VII.9: Scénarios d'évolution des deux systèmes à faible et fort taux de nitrification dans l'écosystème Lamto.

Le moyen le plus simple d'initier une recherche sur la stabilité des deux écotypes d'*H. diplandra* serait une étude démographique *in situ* dans chacun des sites, en tenant compte de la répartition spatiale d'individus marqués, et suivre dans le temps leur reproduction (recrutement), leur croissance et leur mortalité. Des différences pour ces variables entre les sous-populations seraient de précieux indicateurs de la variabilité de leur dynamique.

Une expérience préliminaire de germination in situ *de graines issues des deux sous-populations semble montrer des différences de taux de germination et de croissance des plantules: les deux variables sont plus fortes pour la sous-population issue du site faiblement nitrifiant A (**taux de germination**: 5,4 % et 1,5 %; **taux de croissance des plantules (**n**=20)**: 1,3 (±0,4) et 0,3 (±0,2) cm par jour, pour le site A et le site B, respectivement).*

*Une autre expérience préliminaire de germination en laboratoire de graines issues des deux sous-populations semble aussi montrer des différences de taux de germination et de croissance des plantules: les deux variables sont plus fortes pour la sous-population issue du site faiblement nitrifiant A (**taux de germination**: 72,1 % et 47,6 %; **taux de croissance des plantules (n=30)**: 0,78 (±0,02) et 0,31 (±0,02) cm par jour, pour le site A et le site B, respectivement). Le taux de germination est donc bien plus fort en moyenne en conditions contrôlées qu'en conditions* in situ.

Ces résultats préliminaires suggèrent une moins bonne aptitude à la germination chez les individus *H. diplandra* de la sous-population issue du site nitrifiant B.

Il conviendrait de dresser une carte de la répartition spatiale des deux types de système dans toute la réserve de Lamto, en s'appuyant sur une campagne de prélèvements à une très large échelle. Le problème principal, outre la lourdeur des prélèvements, consiste à choisir la taille de maille pertinente. Une manière de répondre partiellement à cette interrogation serait de trouver les zones de transitions entre le site nitrifiant B et des zones à faible nitrification (comme le site A de cette étude ou d'autres sites étudiés précédemment). Cette limite n'a pas encore été observée dans les prélèvements en transect couvrant les 2,5 hectares d'étude du site B.

***Une expérience préliminaire a permis de récolter de façon aléatoire différents prélèvements de sol dans les environs du site nitrifiant B**. Les résultats permettent de conclure que la limite de cette zone est atteinte dans les 500 mètres au maximum par rapport au centre du site. A cette distance, on retrouve des potentiels de nitrification comparables à ceux du site A. L'échelle d'étude pertinente de la répartition spatiale des deux types de sites*

se situerait donc en dessous des 500 mètres. Par contre, des échantillons dans une zone à un kilomètre du site B ont révélé des potentiels de nitrification élevés.

Nous pouvons donc émettre l'hypothèse que le site B n'est pas unique et qu'il devrait être possible d'en trouver d'autres dans la réserve de Lamto. Afin de réduire le nombre d'échantillons de sol à prélever, les différences phénotypiques entre sous-populations d'*H. diplandra* (observables *in situ* à l'œil nu, Photos 10, 11 – Annexe 1) constitueront un indicateur précieux. Il est prévu d'effectuer prochainement des transects réguliers (5 mètres de distance) afin de déterminer les limites du site B dans plusieurs directions.

Les zones d'interpénétration entre les deux types de systèmes pourraient faire l'étude d'un suivi des populations de Graminées, des caractéristiques du sol, et du potentiel de nitrification suivant des transects expérimentaux pendant une durée suffisamment longue pour espérer observer une évolution (ou une stabilité) des systèmes.

Etudier le mélange des deux sous-populations d'*H. diplandra* devrait aussi fournir une idée de la dynamique de ces systèmes en permettant de définir plus précisément les différentes aptitudes des sous-populations à absorber les nutriments azotés et à germer en conditions de compétition. Les parcelles croisées (voir **Chapitre VI**) ont déjà permis de supposer que la sous-population d'*H. diplandra* provenant du site nitrifiant B pourrait posséder de moins bonnes capacités compétitives que celle provenant du site A. Il faudrait cependant étudier plus précisément en quoi ces capacités diffèrent. Le meilleur moyen serait de créer en condition contrôlées (serre et *in situ*) des parcelles témoins avec une seule sous-population, et des parcelles mélangées, plantées à partir de graines.

On devrait également pouvoir étudier en serre s'il existe une préférence alimentaire différente entre sous-populations pour ce qui concerne le nitrate et l'ammonium. Pour cela, il conviendra de cultiver des individus des deux sous-populations d'*H. diplandra* sur un milieu

neutre en présence de différentes proportions de nitrate, d'ammonium ainsi qu'un mélange des deux.

Enfin, à plus long terme, la modélisation pourrait être envisagée comme outil afin de tester les différents caractères susceptibles de faire varier l'équilibre entre sous-populations de Graminées.

DIFFUSION DU TRAVAIL

Lata J.C., Durand J., Lensi R. & Abbadie L. 1999. Stable coexistence of contrasted nitrification statuses in a wet tropical savanna ecosystem. *Functional Ecology* **13,** sous presse

Lata J.C., Guillaume, K., Degrange V., Abbadie L. & Lensi R. 1999. Root control of nitrification at decimetric scale by the African grass *Hyparrhenia diplandra*: an inhibition/stimulation balance. *Proceedings of the Royal Society, London ser. B,* sous presse

Lata J.C., Degrange V., Lensi R. & Abbadie L. 1999. Nitrification: a handicap bypassed by savanna ecosystems? *Nature*, soumis

Lata J.C., Durand, J., Le Roux, X., Abbadie L. & Lensi R. 1999. Comparison of some phenotypic characteristics between grass subpopulations growing on high- and low-nitrification sites in a wet tropical savanna. *Oikos,* soumis

Lata J.C., Lensi R. & Abbadie L. 1998 Nitrification process and grass cover strongly interact in a wet tropical ecosystem. *Proceedings du Congrès Mondial de Science du Sol*, Montpellier, France

Lata J.C., Lensi R. & Abbadie L. 1998 Nitrification heterogeneity and impact on the vegetation cover in a wet tropical ecosystem (Lamto, Ivory Coast). *Proceedings du Congrès INTECOL*, Florence, Italie

Abbadie L. & Lata J.C. 1999. The nitrogen cycle, *chapitre d'un livre sur l'écosystème Lamto*, Springer Verlag, sous presse

Abbadie L., Lata J.C. & Tavernier V. 1999. Impact des Graminées pérennes sur une ressource rare: l'azote. *In: La jachère en Afrique tropicale*, C. Floret Ed., sous presse

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abbadie, L. (1983) Contribution à l'étude de la production primaire et du cycle de l'azote dans les savanes de Lamto (Côte d'Ivoire). *Travaux des chercheurs de Lamto* **1,** 1-135.

Abbadie, L. (1988) Variations saisonnières quantitatives de l'azote dans les sols des savanes de Lamto. *Annales de l'Université d'Abidjan* **20,** 9-21.

Abbadie, L. (1990) Aspects fonctionnels du cycle de l'azote dans la strate herbacée de la savane de Lamto. *Thèse de Doctorat*, Université Pierre et Marie Curie, Paris, 158 p.

Abbadie, L. & Lepage, M. (1989) The role of subterranean fungus comb chambers (*Isoptera*, *Macrotermitinæ*) in soil nitrogen cycling in a preforest savanna (Côte d'Ivoire). *Soil Biology & Biochemistry* **21,** 1067-1071.

Abbadie, L. & Lensi, R. (1990) Carbon and nitrogen mineralization and denitrification in a humid savanna of West Africa (Lamto, Côte d'Ivoire). *Acta Œcologica* **11(5),** 717-728.

Abbabie, L., Lepage, M. & Le Roux, X. (1992a) Soil fauna at the forest-savanna boundary: role of termite mounds in nutrient cycling. *In*: *Nature and Dynamics of Forest-Savanna Boundaries* Eds P.A. Furley, J. Proctor & J.A. Ratter. Chapman & Hall, pp. 473-484.

Abbadie, L., Mariotti, A. & Menaut, J.C. (1992b) Independence of savanna grasses from soil organic matter for their nitrogen supply. *Ecology* **73(2),** 608-613.

Abbadie, L., Lepage, M. & Menaut, J.C. (1996) Paradoxes d'une savane Africaine. *La Recherche* **186,** 8-9.

Adjanohoun, E. (1964) Végétation des savanes et des rochers découverts en Côte d'Ivoire centrale. *Rapport ORSTOM*, Paris, 178 p.

Allison, F.E. (1973) Soil organic matter and its role in crop production. *Elsevier, Amsterdam*.

Ardakani, M.S., Rehbock, J.T. & McLaren, A.D. (1973) Oxidation of nitrite to nitrate in a soil column. *Soil Science Society of America Proceedings* **37,** 53-56.

Athias, L., Josens, G. & Lavelle, P. (1974) Traits généraux du peuplement endogé: le peuplement animal. *Bulletin de Liaison des Chercheurs de Lamto* **5,** 45-54.

Atjay, G.L., Ketner, P. & Duvigneaud, P. (1987) Terrestrial primary production and phytomass. *In*: *The Global Carbon Cycle*, B. Bolin *et al.* (ed.), SCOPE 13, New York: John Wiley, pp. 129-181.

Balandreau, J. (1975) Activité nitrogénasique dans la rhizosphère de quelques Graminées. *Doctorat ès Sciences Naturelles*, Université Nancy I.

Balandreau, J. (1976) Fixation rhizosphérique de l'azote (C_2H_2) en savane de Lamto. *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol* **13(4),** 529-544.

Baldwin, B.G. (1992) Phylogenetic utility of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA in plants: an example from the *Compositeae*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **1,** 3-16.

Baldwin, I.T., Olsen, R.K. & Reiners, W.A. (1983) Protein binding phenolics and the inhibition of nitrification in subalpine balsam fir soils. *Soil Biology and Biochemistry* **15,** 419-423.

Barois, I. (1987) Interactions entre les vers de terre (*Oligochaeta*) tropicaux géophages et la microflore pour l'exploitation de la matière organique du sol. *Travaux des chercheurs de la Station de Lamto (Côte d'Ivoire)* **7,** 152 p.

Barot, S. (1999) Interactions entre répartition spatiale, hétérogénéité environnementale, et démographie: cas du palmier rônier dans une savane humide de Côte d'Ivoire. *Thèse de Doctorat*, Université Pierre et Marie Curie, Paris, 314 p.

Bartlett, R.J. (1981) Nonmicrobial nitrite-to-nitrate transformations in soils. *Soil Science Society of America Journal* **45,** 1054-1058.

Baruch, Z., Ludlow, M.M. & Davis, R. (1985) Photosynthetic responses of native and introduced C_4 grasses from Venezuelan savannas. *Oecologia* **67,** 388-393.

Baruch, Z. & Fernández, D.S. (1993) Water relations of native and introduced C_4 grasses in a neotropical savanna. *Oecologia* **96,** 179-185.

Basaraba, J. (1964) Influence of vegetable tannins on nitrification in soil. *Plant and Soil* **XXI (1),** 8-16.

Bate, G.C. (1981) Nitrogen cycling in savanna ecosystems. *In: Terrestrial nitrogen cycles*, F.E. Clark & T. Rosswall (Eds.), *Ecological Bulletins*, Swedish Natural Science Research Council (NFR), Stockholm **33,** pp. 463-476.

Bazzaz, F.A. (1998) Plant strategies, models, and successional change: a resource-response perspective. *In*: *Plants in changing environment*, Cambridge University Press, pp. 14-37.

Belser, L.W. & Schmidt, E.L. (1978) Fluorescent antibody technique for determination of growth rates of bacteria in soil. *Bulletin of Ecological Research Communication* (Stockholm) **17,** 67-76.

Belser, L.W. & Schmidt, E.L. (1981) Inhibitory effect of nitrapyrin on three genera of ammonia-oxidizing nitrifiers. *Applied and Environmental Microbiology* **41,** 819-821.

Bernhard-Reversat, F. (1982) Biogeochemical cycle of nitrogen in a semi-arid savanna. *Oïkos* **38,** 321-332.

Blanchart, E. (1990) Rôle des vers de terre dans la formation et la conservation de la structure des sols de la savane de Lamto (Côte d'Ivoire). *Thèse de Doctorat*, Université Rennes I, 263 p.

Bock, E., Sundermeyer-Klinger, H. & Stackebrandt, E. (1983) New facultative lithoautotrophic nitrite-oxidizing bacteria. *Archives of Microbiology* **136,** 281-284.

Bock, E., Koops, H.P. & Harms, H. (1989) Nitrifying bacteria. *In*: *Autotrophic bacteria*, H.G. Schlegel & B. Bowien (eds). Science Tech. Publishers, Madison, WI, pp. 80-96.

Bock, E., Koops, H.P., Möller, U.C. & Rudert, M. (1990) A new facultatively nitrite oxidizing bacterium, *Nitrobacter vulgaris* sp. nov. *Archives of Microbiology* **153,** 105-110.

Bormann, F.H. & Likens, G.E. (1979) Pattern and process in a forested ecosystem. *Springer-Verlag*, Berlin, New York.

Boughey, A.S., Munro, P.E., Meiklejohn, J., Strang, R.M. & Swift, M.J. (1964) Antibiotic reactions between African savanna species. *Nature* **203,** 1302-1303.

Bourlière, F. & Hadley, M. (1983) *In*: *Tropical savannas,* F. Bourlière (ed.), Ecosystems of the world Vol. **13,** Elsevier, Amsterdam.

Brar, S.S. & Giddens, J. (1968) Inhibition of nitrification in Bladen grassland soil. *Soil Science Society of America Proceedings* **32,** 821-823.

Brouwer, R. (1983) Functional equilibrium: sense or nonsense*? Netherlands Journal of Agricultural Science* **31,** 335-348.

Carreira, J.A., Niell, F.X. & Lajtha, K. (1994) Soil nitrogen availability and nitrification in Mediterranean shrublands of varying fire history and successional stage. *Biogeochemistry* **26,** 189-209.

César, J. (1971) Etude quantitative de la strate herbacée de la savane de Lamto (moyenne Côte d'Ivoire). *Thèse troisième cycle,* Université Paris.

César, J. & Menaut, J.C. (1974) Le peuplement végétal des savanes de Lamto (Côte d'Ivoire). *Bulletin de Liaison des Chercheurs de Lamto,* n° spécial **2,** 161p.

Chalk, P.M., Victoria, R.L., Muraoka, T. & Piccolo, M.C. (1990) Effect of a nitrification inhibitor on immobilization and mineralization of soil and fertilizer nitrogen. *Soil Biology & Biochemistry* **22(4),** 533-538.

Chang, F.H. & Broadbent, F.E. (1982) Influence of trace metals on some soil nitrogen transformations. *Journal of Environmental Qual*ity **11,** 1-4.

Chapin, F.S. III. (1988) Ecological aspects of plant mineral nutrition. *In*: *Advances in Plant Nutrition* **Vol. *3*,** 161-191 (eds. B. Tinker & A. Läuchli), (Praeger, New York).

Clays-Josserand, A., Lensi, R. & Gourbière, F. (1991) Vertical distribution of nitrification potential in an acid forest soil. *Soil Biology & Biochemistry* **20,** 405-406.

Clayton, W.D. (1969) A Revision of the Genus *Hyparrhenia*. *Kew Bull. Add. Series* **II**. (H.M. Stationery Office: London.).

Clayton, W.D. (1986) Andropogoneae. *In*: *Grass systematics and evolution*, T.R. Soderstrom, K.W. Hilu, C.S. Campbell & M.E. Barkworth (Eds.), Smithsonian Institution Press, Washington D.C., pp. 307-309.

Clayton, W.D. & Renvoize, S.A. (1986) Genera *Graminum*. Grasses of the World. *Kew Bull. Add. Series* **XII**. (H.M. Stationery Office: London.).

Cœur, C., Clays-Josserand, A., Degrange, V., Lensi, R. & Potier, P. (1999) Detection and quantification of nitrite oxydoreductase to evaluate the functionality of nitrifying communities in soil. *In*: *Proceedings of the International symposium "Enzymes in the environment: activity, applications and Ecology"*, (R.P. Dick, Ed.), Granada, Spain, p. 13.

Daubenmire, R. (1972) Ecology of *Hyparrhenia rufa* (Nees) in derived savanna in North-Western Costa Rica. *Journal of Applied Ecology* **9,** 11-23.

Dauget, J.M. & Menaut, J.C. (1992) Evolution sur 20 ans d'une parcelle de savane boisée non protégée du feu dans la réserve de Lamto (Côte d'Ivoire). *Candollea* **47,** 621-630.

Davidson, R.L. (1969) Effects of soil nutrients and moisture on root/shoot ratios in *Lolium perenne* L. and *Trifolium repens* L. *Annals of Botany* **33,** 571-577.

Davidson, E.A. & Hackler, J.L. (1994) Soil heterogeneity can mask the effects of ammonium availability on nitrification. *Soil Biology & Biochemistry* **26,** 1449-1453.

De Boer, W., Klein Gunnewiek, P.J.A. & Parkinson, D. (1996) Variability of N mineralization and nitrification in a simple, simulated microbial forest soil community. *Soil Biology & Biochemistry* **28,** 203-211.

Degrange, V. (1996) Etude écologique de bactéries nitrifiantes du genre *Nitrobacter*. *Thèse de Doctorat*, Université Claude Bernard, Lyon I, 117 p.

Degrange, V. & Bardin, R. (1995) Detection and counting of *Nitrobacter* populations in soil by PCR. *Applied and Environmental Microbiology* **61(6),** 2093-2098.

Degrange, V., Lensi, R. & Bardin, R. (1997) Activity, size and structure of a *Nitrobacter* community is affected by organic carbon and nitrite in a sterile soil. *FEMS Microbiology Ecology* **24,** 173-180.

Degrange, V., Coûteaux, M.M., Anderson, J.M., Berg, M.P. & Lensi, R. (1998) Nitrification and occurrence of *Nitrobacter* by MPN-PCR in low and high nitrifying coniferous forest soils. *Plant and Soil* **198,** 201-208.

Delmas, J. (1967) Recherches écologiques dans la savane de Lamto: premier aperçu sur les sols et leur valeur agronomique. *La Terre et la Vie* **3,** 216-227.

Delmas, R., Lacaux, J.P., Menaut, J.C., Abbadie, L., Le Roux, X., Lobert, J. & Helas, G. (1995) Nitrogen compound emission from biomass burning in tropical african savanna, FOS/DECAFE 1991 experiment (Lamto, Ivory Coast). *Journal of Atmospheric Chemistry* **22,** 175-193.

Devineau, J.L. (1976) Principales caractéristiques physionomiques et floristiques des formations forestières de Lamto (moyenne Côte d'Ivoire). *Annales de l'Université d'Abidjan* **9,** 274-303.

De Rham, P. (1971) L'azote dans quelques forêts, savanes et terrains de culture d'Afrique tropicale humide (Côte d'Ivoire). *Thèse de Doctorat ès Science*, Université de Lausanne, Zurich.

De Rham, P. (1973) Recherches sur la minéralisation de l'azote dans les sols des savanes de Lamto. *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol* **10(2),** 169-196.

DeWet, J.M.J. (1986) Hybridization and polyploidy in the *Poaceae*. *In*: *Grass systematics and evolution*, T.R. Soderstrom, K.W. Hilu, C.S. Campbell & M.E. Barkworth (Eds.), Smithsonian Institution Press, Washington D.C., pp. 188-194.

Diaz-Fierros, F., Benito, E., Vega, J.A., Castelao, A., Soto, B., Pérez, R. & Taboada, T. (1989) Solute loss and soil erosion in burnt soil from Galicia, N.W. Spain. *In: Fire in ecosystem dynamics: Mediterranean and Northern perspectives*, J.G. Goldammer & M.J. Jenkins (Eds.), The Hague, pp. 103-116.

Dommergues, Y.R. (1966) Biologie du sol. *Presses Universitaires de France*, Paris.

Donaldson, J.M. & Henderson, G.S. (1990) Nitrification potential of secondary-succession upland oak forests. *Soil Science Society of America Journal* **54,** 892-902.

Duchaufour, P. (1965) Précis de Pédologie. *Masson*, Paris.

Dujardin, M. (1979) Additional chromosome numbers and meiotic behaviour in tropical African grasses from Western Zaïre. *Canadian Journal of Botany* **57,** 864-876.

Egunjobi, J.K. (1974) Dry matter, nitrogen and mineral element distribution in an unburnt savanna during the year. *Oecologia Plantarum* **9,** 1-10.

Einhellig, F.A. & Leather, G.R. (1988) Potentials for exploiting allelopathy to enhance crop production. *Journal of Chemical Ecology* **14(10),** 1829.

Ellenberg, H. (1971) Nitrogen content, mineralization and cycling. *In*: *Productivity of forest ecosystems*, P. Duvigneaud, ed. UNESCO, Paris, pp. 504-514.

Farina, A. (1999) Preface. *In*: *Perspectives in Ecology – A glance from the VII International Congress of Ecology (Florence 19-25 July 1998)*, A. Farina (ed.), Backhuys Publishers, Leiden, NL, pp. 1-3.

Feller, C., Burtin, G., Gérard, B. & Balesdent, J. (1991) Utilisation des résines sodiques et des ultrasons dans le fractionnement granulométrique de la matière organique des sols. Intérêt et limites. *Science du sol* **29,** 77-93.

Foregeard, F. & Frenot, Y. (1987) Suivi de quelques caractéristiques physico-chimiques d'un sol de lande à *Ulex europaeus* après un incendie de printemps. *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol* **24,** 715-728.

Forge, P. (1982) Nouvelle approche de la définition des saisons climatiques de la région de Lamto (Côte d'Ivoire). *Annales de l'Université d'Abidjan* **XV,** 7-25.

Frost, P., Medina, E., Menaut, J.C., Solbrig, O., Swift, M. & Walker, B. (1986) Responses of savannas to stress and disturbance. *Biology International (I.U.B.S.) NTIS*, Volume **10,** 1-82.

Gautier, L. (1990a) Carte du recouvrement ligneux de la réserve de Lamto. Conservatoire et jardin botanique de la ville de Genève.

Gautier, L. (1990b) Contact forêt-savane en Côte d'Ivoire centrale: évolution du recouvrement ligneux des savanes de la Réserve de Lamto (sud du V-Baoulé). *Candollea* **45,** 627-641.

Gay, G. (1983) Etude écologique des bactéries nitrifiantes: comparaison de deux sérotypes de *Nitrobacter*. *Thèse de troisième cycle,* Université Lyon I, 172 p.

Gignoux, J., Menaut, J.C., Noble, I.R., *et al*. (1997) A spatial model of savanna function and dynamics: model description and preliminary results. *In*: *Population and community dynamics in the Tropics,* D.M. Newbery, H.H.T. Prins & N.D. Brown (eds). Blackwell Science, Cambridge, UK, pp. 361-383.

Goh, K.M. & Haynes, R.J. (1986) Nitrogen and agronomic practice. *In*: *Mineral Nitrogen in the Plant-Soil System* pp. 379-468 (Academic Press Inc., London).

Goring, C.A.I. & Laskowski, D.A. (1982) The effects of pesticides on nitrogen transformations in soils. *In*: *Nitrogen in agricultural soils*, F.J. Stevenson, ed. *American Society of Agronomy*, Madison, Wisconsin, pp. 689-720.

Gregory, P., Shepherd, K. & Cooper, P. (1984) Effects of fertilizer on root growth and water use of barley in N.-Syria. *Journal of Agricultural Research, Cambridge* **103,** 429-438.

Grundmann, G.L. (1990) Utilisation des Méthodes Géostatistiques en Microbiologie du Sol: Revue Bibliographique. *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol* **27(4),** 353-369.

Hageman, R.H. & Reed, A.J. (1980) Nitrate reductase from higher plants. *Methods in Enzymology* **69,** 270-280.

Hankison, T.R. & Schmidt, E.L. (1988) An acidophilic and a neutrophilic *Nitrobacter* strain from the numerically predominant nitrite-oxidizing population of an acid forest soil. *Applied and Environmental Microbiology* **54,** 1536-1540.

Haynes, R.J. (1986) Role of nitrification in ecosystems. In *Mineral Nitrogen in the Plant-Soil System* pp. 149-155 (Academic Press Inc., London).

Haynes, R.J. & Goh, K.M. (1978) Ammonium and nitrate nutrition of plants. *Biological Reviews* **53,** 465-510.

Haynes, R.J. & Sherlock, R.R. (1986) Gaseous losses of nitrogen. In *Mineral Nitrogen in the Plant-Soil System* pp. 242-302 (Academic Press Inc., London).

Hopkins, B. (1966) Vegetation of the Olokomeji Forest Reserve, Nigeria. VII. The plants on the savanna site with special reference to their seasonal growth. *Journal of Ecology* **58,** 795-825.

Howard, P.J.A. & Howard, D.M. (1991) Inhibition of nitrification by aqueous extracts of tree leaf litters. *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol* **28(3),** 255-264.

Howard, P.J.A. & Howard, D.M. (1993) Ammonification of complexes prepared from gelatin and aqueous extracts of leaves and freshly-fallen litter of trees on different soil types. *Soil Biology & Biochemistry* **25(9),** 1249-1256.

Huber, D.M., Warren, H.L., Nelson, D.W. & Tsai, C.Y. (1977) Nitrification inhibitors - New tools for food production. *BioScience* **27,** 523-529.

Huntjens, J.L.M. (1971) The influence of living plants on mineralization of nitrogen. *Plant and Soil* **35,** 77-94.

Hutchinson, J. & Dalziel, J.M. (1972) Flora of West tropical Africa. Whitefriars Press, London, Volume **III**, Part **2**.

Jackson, R.B. & Caldwell, M.M. (1993) Geostatistical patterns of soil heterogeneity around individual perennial plants. *Journal of Ecology* **81,** 683-692.

Jacques-Félix, H. (1962) Les Graminées (Poaceae) d'Afrique Tropicale. *Institut de Recherches Agronomiques Tropicales et des Cultures Vivrières*, Paris.

Jones, R.W. & Richards, B.N. (1977) Effect of reforestation on turnover of ^{15}N-labelled nitrate and ammonium in relation to changes in soil microflora. *Soil Biology & Biochemistry* **9,** 383-392.

Jordan, C.F., Todd, R.L. & Escalante, G. (1979) Nitrogen conservation in a tropical rain forest. *Oecologia* **39,** 123-128.

Josserand, A. (1983) Apport de l'immunofluorescence à l'étude écologique des germes nitrifiants (genre *Nitrobacter*). *Thèse d'Etat*, Université Lyon I, 149 p.

Kaiser, P. (1983) The role of soil micro-organisms in savanna ecosystems. *In*: *Tropical savannas*, F. Bourlière (ed.), Ecosystems of the world Vol. **13,** Elsevier, Amsterdam, pp. 541-557.

Keeney, D.R. (1986) Inhibition of nitrification in soils. *In*: *Nitrification*, Ed. J. Prosser, IRL Press, Oxford, Washington D.C., pp. 99-115.

Klink, C.A. (1996) Germination and seedling establishment of two native and one invading African grass species in the Brazilian cerrado. *Journal of Tropical Ecology* **12,** 139-147.

Konaté, S. (1998) Structure, dynamique et rôle des buttes termitiques dans le fonctionnement d'une savane préforestière (Lamto, Côte d'Ivoire): le termite champignonniste *Odontotermes* comme ingénieur de l'écosystème. *Thèse de Doctorat*, Université Pierre et Marie Curie, Paris, 259 p.

Koops, H.P., Böttcher, B., Möller, U.C., Pommerening-Röser, A. & Stehr, G. (1991) Classification of eight new species of ammonia-oxydizing bacteria: *Nitrosomonas communis* sp. nov., *Nitrosomonas ureae* sp. nov., *Nitrosomonas estuarii* sp. nov., *Nitrosomonas marina* sp. nov., *Nitrosomonas nitrosa* sp. nov., *Nitrosomonas eutropha* sp. nov., *Nitrosomonas oligotropha* sp. nov., and *Nitrosomonas halophila* sp. nov. *Journal of General Microbiology* **137,** 1689-1699.

Kummacher, P., Anoma, G., Adjanohoun, E. & Aké Assi, L. (1973) Nombres chromosomiques de Graminées de Côte d'Ivoire. *Candollea* **28,** 191-217.

Kutiel, P. & Naveh, Z. (1987) The effect of fire on nutrients in a pine forest soil. *Plant and Soil* **104,** 269-274.

Lamotte, M. (1967) Recherche écologique dans la savane de Lamto (Côte d'Ivoire): présentation du milieu et programme de travail. *La Terre et la Vie* **3,** 197-215.

Lamotte, M. (1981) Structure et fonctionnement des écosystèmes de la savane de Lamto (Côte d'Ivoire). *In*: *Ecosystèmes pâturés tropicaux*, Unesco, PNUE et FAO, Eds. Unesco, Paris, pp. 529-580.

Larcher, W. (1995) The surroundings of plants. *In*: *Physiological Plant Ecology*, Springer-Verlag, Berlin, Heideberg, pp. 1-31.

Lata, J.C., Durand, J., Lensi, R. & Abbadie, L. (1999a) Stable coexistence of contrasted nitrification statuses in a wet tropical savanna ecosystem. *Functional Ecology* **13,** in press.

Lata, J.C., Degrange, V., Lensi, R. & Abbadie, L. (1999b) Nitrification: a handicap bypassed by savanna ecosystems? *Nature*, submitted.

Lata, J.C., Guillaume, K., Degrange, V., Lensi, R. & Abbadie, L. (1999c) Root control of nitrification at decimetric scale by the African grass *Hyparrhenia diplandra*: an inhibition/stimulation balance. *Proceedings of the Royal Society Series B, London*, in press.

Lechowicz, M.J. & Bell, G. (1991) The Ecology and Genetics of Fitness in Forest Plants. II. Microspatial Heterogeneity of the Edaphic Environment. *Journal of Ecology* **79,** 687-696.

Lecordier, C. (1974) Le climat. *In*: *Analyse d'un écosystème tropicale humide: la savane de Lamto (RCI). Les facteurs physiques du milieu. Bulletin de Liaison des Chercheurs de Lamto*, 45-103.

Lensi, R., Mazurier, S., Gourbière, F. & Josserand, A. (1986) Rapid determination of the nitrification potential of an acid forest soil and assessment of its variability. *Soil Biology & Biochemistry* **18,** 239-240.

Lensi, R., Lescure, C., Clays-Josserand, A. & Gourbière, F. (1991) Spatial distribution of nitrification and denitrification in an acid forest soil. *Forest Ecology and Management* **44,** 29-40.

Lensi, R., Domenach, A.M. & Abbadie, L. (1992) Field study of nitrification and denitrification in a wet savanna of West Africa (Lamto, Côte d'Ivoire). *Plant and Soil*, **147,** 107-113.

Le Provost, E. (1993) Structure et fonctionnement de la strate herbacée d'une savane humide (Lamto, Côte d'Ivoire). *D.E.A. d'écologie générale et de production végétale*, Université Pierre et Marie Curie, Paris, 31p.

Le Roux, X. (1995) Etude et modélisation des échanges d'eau et d'énergie sol-végétation-atmosphère dans une savane humide (Lamto, Côte d'Ivoire). *Thèse de Doctorat,* Université Pierre et Marie Curie, Paris, 203 p.

Le Roux, X. & Mordelet, P. (1995) Leaf and canopy CO_2 assimilation in a West African humid savanna during the early growing season. *Journal of Tropical Ecology* **11,** 529-545.

Le Roux, X., Abbadie, L., Lensi, R. & Serça, D. (1995) Emission of nitrogen monoxide from African tropical ecosystems: control of emission by soil characteristics in humid and dry savannas of West Africa. *Journal of Geophysical Research*, **100(11),** 23, 133-23,142.

Lodhi, M.A.K. (1977) The influence and comparison of individual forest trees on soil properties and possible inhibition of nitrification due to intact vegetation. *American Journal of Botany* **64,** 260-264.

Lodhi, M.A.K. (1978) Comparative inhibition of nitrifiers and nitrification in a forest community as a result of the allelopathic nature of various tree species. *American Journal of Botany* **65,** 1135-1137.

MacDonald, R.M. (1986) Nitrification in soil: an introductory history. *In*: *Nitrification*, Ed. J.I. Prosser, IRL Press, Oxford, Washington D.C., pp. 1-16.

Mahendrappa, M.K., Smith, R.L. & Christianson, A.T. (1966) Nitrifying organisms affected by climatic region in Western United States. *Soil Science Society of America Proceedings* **30,** 60-62.

Malhi, S.S. & McGill, W.B. (1982) Nitrification in three Alberta soils: effect of temperature, moisture and substrate concentration. *Soil Biology & Biochemistry* **14,** 393-399.

Marion, G.M., Moreno, J.M. & Oechel, W.C. (1991) Fire severity, ash deposition and clipping effects on soil nutrients in Chaparral. *Soil Science Society of America Journal* **55,** 235-240.

Mathez, J. (1993) Les Monocotylédones. *Biosystema* **9,** Société Française de Systématique, Paris.

McCarty, G.W., Bremner, J.M. & Schmidt, E.L. (1991) Effects of phenolic acids on ammonia oxidation by terrestrial autotrophic nitrifying microorganisms. *FEMS Microbiology Ecology* **85,** 345-349.

McLaren, A.D. (1971) Kinetics of nitrification in soil: growth of the nitrifiers. *Soil Science Society of America Proceedings* **35,** 91-95.

Meiklejohn, J. (1962) Microbiology of the nitrogen cycle in some Ghana soils. *Empire Journal of Experimental Agriculture* **30,** 115-126.

Meiklejohn, J. (1968) Numbers of nitrifying bacteria in some Rhodesian soils under natural grass and improved pastures. *Journal of Applied Ecology* **5,** 291-300.

Melillo, J.M. (1977) Mineralization of nitrogen in northern forest ecosystems. *Ph. D. Thesis,* Yale University, New Haven, Connecticut.

Melillo, J.M. (1981) Nitrogen cycling in deciduous forests. *In*: *Terrestrial Nitrogen Cycles: Processes, Ecosystem strategies and management impacts,* F.E. Clarck & T. Rosswall, eds. *Ecological Bulletins*, Stockholm, pp. 427-442.

Menaut, J.C. (1971) Etude de quelques peuplements ligneux d'une savane guinéenne de Côte d'Ivoire. *Thèse de troisième cycle*, Faculté des sciences de Paris, 141p.

Menaut, J.C. (1983) The vegetation of African savannas. *In*: *Tropical savannas,* F. Bourlière (ed.), Ecosystems of the world Vol. **13,** Elsevier, Amsterdam, pp. 109-149.

Menaut, J.C. & César, J. (1979) Structure and primary productivity of Lamto savannas, Ivory Coast. *Ecology*, **60(6),** 1197-1210.

Menaut, J.C. & César, J. (1982) The structure and dynamics of a West African savanna. *In*: *Ecology of tropical savannas*, B.J. Huntley & B.H. Walker (eds), Springer Verlag, Berlin, pp. 80-100.

Menaut, J.C., Gignoux, J., Prado, C., *et al*. (1990) Tree community dynamics in a humid savanna of Côte d'Ivoire: modelling the effects of fire and competition with grass and neighbours. *Journal of Biogeography* **17,** 471-481.

Menaut, J.C., Abbadie, L., Lavenu, F., Loudjani, P. & Podaire, A. (1991) Biomass burning in west African savannas. *In*: *Global biomass burning. Atmospheric, climatic and biospheric implications*, J.S.Levine (ed). The MIT Press, Cambridge, 133-142.

Menaut, J.C., Abbadie, L. & Vitousek, P. (1993) Nutrient and organic matter dynamics in tropical ecosystems. *In*: *Fire in the environment: its ecological, climatic and atmospheric chemical importance*. P.J. Crutzen & J.G. Goldammer Eds. John Wiley & Sons, pp. 215-231.

Monnier, Y. (1968) Les effets des feux de brousse sur une savane préforestière de Côte-d'Ivoire. *Etudes éburnéennes* **IX,** Ministère de la Recherche Scientifique de la République de Côte d'Ivoire, Abidjan.

Monnier, Y. (1981) La poussière et la cendre. *Agence de Coopération Culturelle et Technique*, Paris, 252 p.

Monteny, B. (1987) Contribution à l'étude des interactions végétation-atmosphère en milieu tropical humide. *Doctorat d'Etat*, Paris XI, Orsay.

Mordelet, P., Abbadie, L. & Menaut, J.C. (1993) Effects of tree clumps on soil characteristics in a humid savanna of West Africa (Lamto, Côte d'Ivoire). *Plant and Soil*, **153,** 103-111.

Mordelet, P., Barot, S. & Abbadie, L. (1996) Root foraging strategies and soil patchiness in a humid savanna. *Plant and Soil*, **182,** 171-176.

Morris, A.W. & Riley, J.P. (1963) Determination of nitrate in sea water. Analytica Chimica Acta **29,** 272-279.

Munro, P.E. (1966a) Inhibition of nitrifiers by grass root extracts. *Journal of Applied Ecology* **3,** 231-238.

Munro, P.E. (1966b) Inhibition of nitrite-oxidizers by roots of grass. *Journal of Applied Ecology* **3,** 227-229.

Nacro, H.B. (1997) Hétérogénéité de la matière organique dans un sol de savane humide (Lamto, Côte d'Ivoire): caractérisation chimique et étude, *in vitro*, des activités microbiennes de minéralisation du carbone et de l'azote. *Thèse d'Etat*, Université Paris 6, 302p.

Pagney, P. (1988) Le climat de Lamto (Côte d'Ivoire). *In*: *Le climat de la savane de Lamto (RCI) et sa place dans les climats de l'Ouest africain*. M. Lamotte & J.L. Tireford, Eds. *Travaux des Chercheurs de Lamto*, pp. 31-79.

Painter, H.A. (1986) Nitrification in the treatment of sewage and waste-water. *In*: *Nitrification*, Ed. J. Prosser, IRL Press, Oxford, Washington D.C., pp. 157-184.

Paturel, J.E. *et al.* (1995) Manifestations de la sécheresse en Afrique de l'Ouest non sahélienne. Cas de la Côte d'Ivoire, du Togo et du Bénin. *Sécheresses* **6,** 95-102.

Pochon, J. & Bacvarov, I. (1973) Données préliminaires sur l'activité microbiologique des sols de la savane de Lamto (Côte d'Ivoire). *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol*, **10(1)**, 35-43.

Prieto-Fernandez, A., Villar, M.C., Carballas, M. & Carballas, T. (1993) Short-term effects of wildfire on the nitrogen status and its mineralization kinetics in an atlantic forest soil. *Soil Biology & Biochemistry* **25,** 1657-1664.

Purchase, B.S. (1974) Evaluation of the claim that grass root exudates inhibit nitrification. *Plant and Soil* **41,** 527-539.

Raison, R.J. (1979) Modification of the soil environment by vegetation fires, with particular reference to nitrogen transformations: a review. *Plant and Soil* **51,** 73-108.

Rennie, R.J., Reyes, V.G. & Schmidt, E.L. (1977) Immunofluorescent detection of the effects of wheat and soybean roots on Nitrobacter in soil. *Soil Science* **124,** 10-15.

Retallack, G.J. (1992) Middle Miocene fossil plants from Fort Tenan (Kenya) and evolution of African grasslands. *Paleobiology* **18,** 383-400.

Rice, E.L. (1979) Allelopathy-an update. *The Botanical Review* **45(1),** 15-109.

Rice, E.L. & Pancholy, S.K. (1972) Inhibition of nitrification by climax ecosystems. *American Journal of Botany* **59,** 1033-1040.

Rice, E.L. & Pancholy, S.K. (1973) Inhibition of nitrification by climax ecosystems. II. Additional evidence and possible role of tannins. *American Journal of Botany* **60,** 691-702.

Rice, E.L. & Pancholy, S.K. (1974) Inhibition of nitrification by climax ecosystems. III. Inhibitors other than tannins. *American Journal of Botany* **61,** 1095-1103.

Riou, G. (1974) Les sols de la savane de Lamto. *Bulletin de Liaison des Chercheurs de Lamto*, n° spécial **1,** 3-45.

Riou, G. (1995) Savanes: l'herbe, l'arbre et l'homme en terres tropicales. *Masson Editeur*, Paris, 270p.

Robertson, G.P. (1982) Nitrification in forested ecosystems. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B* **296,** 445-457.

Robertson, G.P. (1984) Nitrification and nitrogen mineralization in a lowland rainforest succession in Costa Rica, Central America. *Oecologia* **61,** 99-104.

Robertson, G.P. (1986) Nitrogen: regional contributions to the global cycle. *Environment* **28(10),** 16-21.

Robertson, G.P. (1989) Nitrification and denitrification in humid tropical ecosystems: potential controls on nitrogen retention. In *Mineral nutrients in tropical forest and savanna ecosystems* Ed. Proctor, J., Blackwell Scientific, *British Ecological Society Special Publication* n°**9,** 55-69.

Robinson, J.B. (1963) Nitrification in a New Zealand grassland soil. *Plant and Soil* **XIX(2),** 173-183.

Ross, S.M., Luizão, F.J. & Luizão, R.C.C. (1992) Soil conditions and soil biology in different habitats across a forest-savanna boundary on Maracá Island, Roraima, Brazil. *In Nature and Dynamics of Forest-Savanna Boundaries* Eds P.A. Furley, J. Proctor & J.A. Ratter. Chapman & Hall, 145-170.

Rother, J.A., Millbank, J.W. & Thornton, I. (1982) Effects of heavy-metal additions on ammonification and nitrification in soils contaminated with cadmium, lead and zinc. *Plant and Soil* **69,** 239-258.

Roy, S. & Singh, J.S. (1995) Seasonal and spatial dynamics of plant-available N and P pools and N-mineralization in relation to fine roots in a dry tropical forest habitat. *Soil Biology & Biochemistry* **27(1),** 33-40.

Russel, J.D., Fraser, A.R., Watson, J.R. & Parsons, J.W. (1974) Thermal decomposition of protein in soil organic matter. *Geoderma* **11,** 63-66.

Sahrawat, K.L. (1982) Nitrification in some tropical soils. *Plant and Soil* **65,** 281-286.

Sahrawat, K.L. (1989) Effects of nitrification inhibitors on nitrogen transformations, other than nitrification, in soils. *Advances in Agronomy* **42,** 279-309.

San José, J.J. & Fariñas, M.R. (1991) Temporal changes in the structure of a *Trachypogon* savanna protected for 25 years. *Acta Œcologica* **12,** 237-247.

SAS Institute Inc. (1989) SAS/STAT User's Guide. *SAS Institute Inc*., Cary, NC.

Schaefer, R. (1974) Traits généraux du peuplement endogé des savanes de Lamto: le peuplement microbien. *Bulletin de Liaison des Chercheurs de Lamto,* n° spécial **5,** 39-44.

Schimel, D.S. & Parton, W.J. (1986) Microclimatic controls of nitrogen mineralization and nitrification in shortgrass steppe soils. *Plant and Soil* **93,** 347-357.

Schmidt, E.L. (1982) Nitrification in soil. *In*: *Nitrogen in agricultural soils*, F.J. Stevenson, ed. *American Society of Agronomy*, Madison, Wisconsin, pp. 253-288.

Scholes, R.J. & Walker, B.H (1993) African savannas: an overview. *In*: *An African savanna: synthesis of the Nylsvley study*, Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 2-16.

Serça, D. *et al*. (1998) Comparison of nitrogen monoxide emissions from several African tropical ecosystems and influence of season and fire. *Global Biogeochemical Cycles* **12,** 637-651.

Servant, J., Delmas, R., Rancher, J. & Rodriguez, M. (1984) Aspects of the cycle of inorganic nitrogen compounds in the tropical rain forest of the Ivory Coast. *Journal of Atmospheric Chemistry* **1(4),** 391-401.

Shannon, C.E. & Weaver, W. (1949) *The mathematical theory of communication*. University of Illinois Press, Urbana.

Simpson, E.H. (1949) Measurement of diversity. *Nature, London* **163,** 688.

Skarpe, C. (1992) Dynamics of savanna ecosystems. *Journal of Vegetation Science* **3,** 293-300.

Smit, A.J. & Woldendorp, J.W. (1981) Nitrate production in the rhizosphere of *Plantago* species. *Plant and Soil* **61,** 43-52.

Solbrig, O.T. (1993) Ecological constraints to savanna land use. *In*: *The world's savannas*, M.D. Young & O.T. Solbrig (Eds.), MAB series Vol. **12,** UNESCO & Parthenon Publishing Group, UK, pp. 21-47.

Solbrig, O.T. & Young, M.D. (1993) Economic and ecological driving forces affecting tropical savannas. *In*: *The world's savannas*, M.D. Young & O.T. Solbrig (Eds.), MAB series Vol. **12,** UNESCO & Parthenon Publishing Group, UK, pp. 3-18.

Solomonson, L.P. & Barber, M.J. (1990) Assimilatory nitrate reductase: functional properties and regulation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **41,** 225-253.

Sorokin, D.Y., Muyzer, G., Brinkhoff, T., Kuenen, J.G. & Jetten, M.S. (1998) Isolation and characterization of a novel facultatively alkalophilic *Nitrobacter* species, *N. alkalicus* sp. nov. *Arch. Microbiol*. **170 (5),** 345-352.

Stebbins, G.L. (1986) Grass systematics and evolution: past, present and future. *In*: *Grass systematics and evolution*, T.R. Soderstrom, K.W. Hilu, C.S. Campbell & M.E. Barkworth (Eds.), Smithsonian Institution Press, Washington D.C., pp. 359-367.

Stienstra, A.W., Klein Gunnewiek, P. & Laanbroek, H.J. (1994) Repression of nitrification in soils under a climax grassland vegetation. *FEMS Microbiology Ecology* **14,** 45-52.

Stiven, G. (1952) Production of antibiotic substances by the roots of a grass (*Trachypogon plumosus* (H. B. K.) Nees) and of *Pentanisia variabilis* (E. Mey.) Harv. (Rubiaceæ). *Nature, Lond.* **170,** 712-713.

Stojanovic, B.J. & Alexander, M. (1958) Effect of inorganic nitrogen on nitrification. *Soil Science* **86,** 208-215.

Teske, A., Alm, E., Rejan, J.M., Tege, S., Rittmann, B.E. & Stahl, D.A. (1994) Evolutionary relationships among ammonia and nitrite-oxydizing bacteria. *Journal of Bacteriology* **176,** 6623-6630.

Theron, J.J. (1951) The influence of plants on the mineralization of nitrogen and the maintenance of organic matter in the soil. *Journal of Agricultural Science Cambridge* **41,** 289-296.

Todd, R.L., Swank, W.T., Douglass, J.E., Kerr, P.C., Brockway, D.L. & Monk, C.D. (1975) The relationship between nitrate concentration in southern Appalachian mountain streams and terrestrial nitrifiers. *Agro-Ecosystems* **2,** 127-132.

Verstraete, W. (1981) Nitrification. In *Terrestrial Nitrogen Cycles* 303-314 (eds. F. E. Clark & T. Rosswall), (Ecol. Bull., Vol. 33, Stockholm).

Villecourt, P. (1975) Apports d'azote minéral (nitrique et ammoniacal) par la pluie dans la savane de Lamto. *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol* **12(4),** 667-680.

Villecourt, P. & Roose, E. (1978) Charge en azote et en éléments minéraux majeurs des eaux de pluie, de pluviolessivage et de drainage dans la savane de Lamto (Côte d'Ivoire). *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol* **15(1),** 1-20.

Villecourt, P., Schmidt, W. & César, J. (1979) Recherche sur la composition chimique (N, P, K) de la strate herbacée de la savane de Lamto (Côte d'Ivoire). *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol* **16(1),** 9-15.

Vitousek, P.M. (1981) Clear-cutting and the nitrogen cycle. In *Terrestrial Nitrogen Cycles* 631-642 (eds. F. E. Clark & T. Rosswall), (Ecol. Bull., Vol. 33, Stockholm).

Vitousek, P.M., Gosz, J.R., Grier, C.C., Mellilo, J.M., Reiners, W.A. & Todd, R.L. (1979) Nitrate losses from disturbed ecosystems. *Science* **204,** 469-474.

Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. *et al.* (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* **23,** 4407-4414.

Vuattoux, R. (1970) Observations sur l'évolution des strates arborée et arbustive dans la savane de Lamto. *Annales de l'Université d'Abidjan,* série E **3(1),** 285-315.

Vuattoux, R. (1976) Contribution à l'étude de l'évolution des strates arborées et arbustives dans la savane de Lamto (Côte d'Ivoire), deuxième note. *Annales de l'Université d'Abidjan,* série C (sciences) **XII,** 35-63.

Walker, T.W. & Syers, J.K. (1976) The fate of phosphorus during pedogenesis. *Geoderma* **15,** 1-19.

Wallace, W. (1987) Regulation of nitrate utilization in higher plants. *In*: *Inorganic Nitrogen metabolism* Eds. W.R. Ullrich, P.J. Aparicio, P.J. Syrett, F. Castillo, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 223-230.

Warner, R.L., Lin, C.J. & Kleinhofs, A. (1977) Nitrate reductase-deficient mutants in barley. *Nature* **269,** 406-407.

Watson, L., Clifford, H.T. & Dallwitz, M.J. (1985) The classification of Poaceae: subfamilies and supertribes. *Australian Journal of Botany* **33,** 433-484.

Watson, S.W., Bock, E., Harms, H., Koops, H.P. & Hooper, A.B. (1989) Family *Nitrobacteriaceae* Buchanan. *In*: *Bergey's manual of systematic bacteriology*, S.T. Williams, M.E. Sharpe & J.G. Holt, (eds). Williams and Wilkins, Baltimore, MA, Vol. **3,** 1808-1834.

Wedin, D.A. & Tilman, D. (1990) Species effects on nitrogen cycling: a test with perennial grasses. *Oecologia* **84,** 433-441.

Welch, J. & McLelland, M. (1990) Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research* **18,** 7213-7218.

Weston, L.A., Harmon, R. & Mueller, S. (1989) Allelopathic potential of sorghum-sudangrass hybrid (sudex). *Journal of Chemical Ecology* **15(6),** 1855.

Wheeler, G.L. & Donaldson, J.M. (1983) Nitrification in an upland forest sere. *Soil Biology & Biochemistry* **15,** 119-121.

White, F. (1980) The vegetation of Africa. *Natural Resources Research*, Vol. **XX**, UNESCO, Paris, 356 pp.

White, C.S. (1986) Effects of prescribed fire on rates of decomposition and nitrogen mineralization in a ponderosa pine ecosystem. *Biology and Fertility of Soils* **2,** 87-95.

Whittaker, R.H. (1972) Evolution and measurement of species diversity. *Taxon* **21,** 213-251.

Wiens, J.A. (1999) Landscape ecology: scaling from mechanisms to management. *In*: *Perspectives in Ecology – A glance from the VII International Congress of Ecology (Florence 19-25 July 1998)*, A. Farina (ed.), Backhuys Publishers, Leiden, NL, 13-24.

Woese, C.R. (1987) Bacterial evolution. *Microbiological Review* **51,** 221-271.

Woese, C.R. (1994) There must be a prokaryote somewhere microbiology's search for itself. *Microbiological Review* **58,** 1-9.

Woodmansee, R.G., Dodd, J.L., Bowman, R.A., Clark, F.E. & Dickinson, C.E. (1978) Nitrogen budget of a shortgrass prairie ecosystem. *Oecologia* **34,** 363-376.

Yoshida, T. & Alexander, M. (1970) Nitrous oxide formation by *Nitrosomonas europaea* and heterotrophic microorganisms. *Soil Science Society of America Proceedings* **34,** 880-882.

Zak, D.R. & Grigal, D.F. (1991) Nitrogen mineralization, nitrification and denitrification in upland and wetland ecosystems. *Oecologia* **88,** 189-196.

ANNEXE 1 : Planches photos

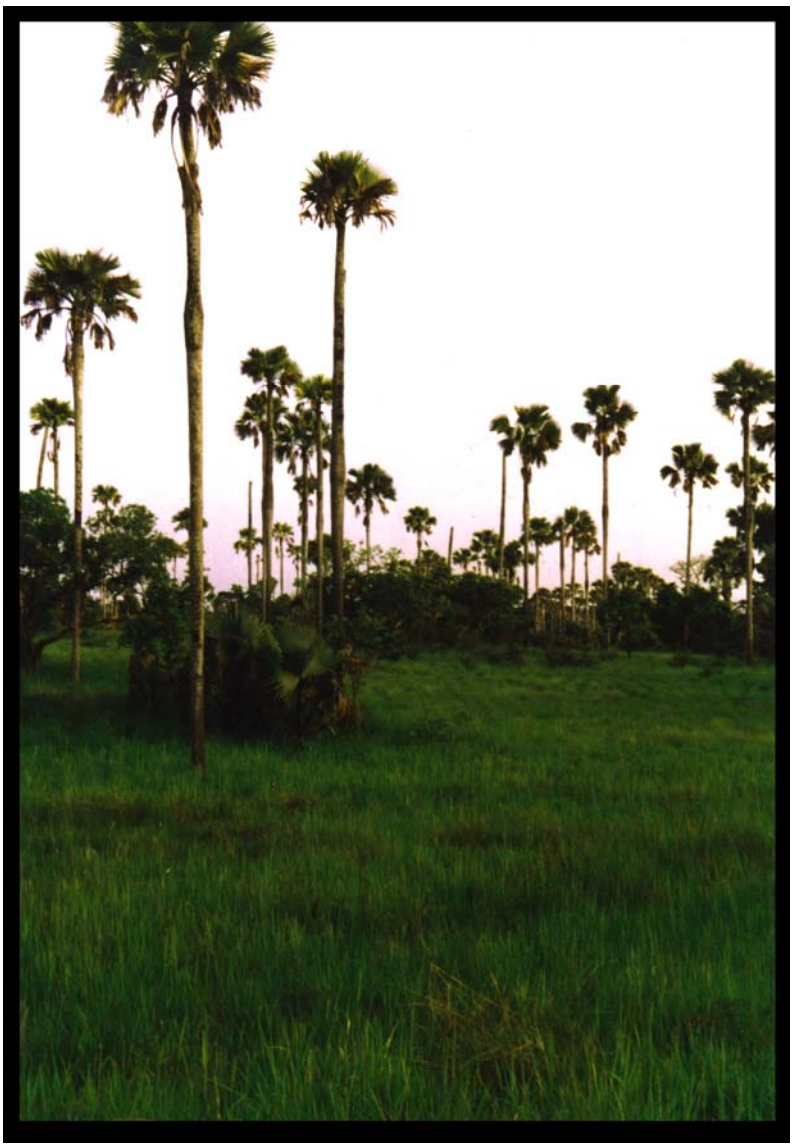


Photo 1 : Physionomie typique des savanes de Lamto : strate herbacée, strate arbustive et strate des palmiers rôniers.



Photo 2 : Strate des palmiers rôniers.



Photo 3 : Surface au sol des touffes pérennes après élimination de la biomasse épigée.



Photo 4 : Touffes d'*Hyparrhenia diplandra* (site A).



Photo 5 : Touffe d'*Hyparrhenia diplandra* avec son chevelu radiculaire (Monnier, 1968).



Photo 6 : Comptage de feuilles d'une touffe d'*Hyparrhenia diplandra*.



Photo 7 : Mosaïque alternant sol nu et touffes d'*Hyparrhenia diplandra*.



Photo 8 : Prélèvements décimétriques aux profondeurs 0-10, 10-20 et 20-30 cm. Noter la différence de couleurs entre horizons.



Photo 9 : Parcelle d'individus *H. diplandra* entourée d'une bordure de sol nu.



Photo 10 : Densité et tailles des individus *H. diplandra* sur un m² dans le site faiblement nitrifiant (site A).



Photo 11 : Densité et tailles des individus *H. diplandra* sur un m² dans le site fortement nitrifiant (site B).



Photo 12 : Parcelle laissée artificiellement nue (couverture végétale éliminée régulièrement).

ANNEXE 2 : Index des espèces végétales citées

Herbacées	Famille
Andropogon ascinodis C.B. Cl.	Gramineae
Andropogon canaliculatus Schum.	Gramineae
Andropogon schirensis Hochst ex A. Rich.	Gramineae
Aspilia bussei Oliv. et Hiern	Compositae
Brachiaria brachylopha Stapf	Gramineae
Cassia mimosoïdes Linn.	Caesalpiniaceae
Curculigo pilosa Engl.	Hypoxidaceae
Cyanotis rubescens A. Chev.	Commelinaceae
Cyperus obtusiflorus Bruce	Cyperaceae
Hyparrhenia diplandra (Hack.) Stapf	Gramineae
Hyparrhenia rufa Stapf.	Gramineae
Hyparrhenia smithiana Stapf.	Gramineae
Imperata cylindrica (Linn.) P. Beauv.	Gramineae
Indigofera polysphaera Bak.	Papilionaceae
Loudetia simplex (Nees) C. E. Hubbard	Gramineae
Panicum fulgens Stapf	Gramineae
Schizachyrium platyphyllum (Franch.) Stapf.	Gramineae
Sorghastrum bipennatum (Hack.) Pilger	Gramineae
Tephrosia elegans Schum.	Papilionaceae
Vigna sp.	Papilionaceae

Ligneux	Famille
Afzelia africana Sm.	Caesalpiniaceae
Borassus aethiopum Mart. (palmier rônier)	Palmae
Bridelia ferruginea Benth.	Euphorbiaceae
Cochlospermum planchonii Hook. f.	Cochlospermaceae
Cola gigantea A. Chev.	Sterculiaceae
Cola laurifolia Mast.	Sterculiaceae
Crossopteryx febrifuga Benth.	Rubiaceae
Croton scarciesii Sc. Elliot	Euphorbiaceae
Cussonia barteri Seeman	Araliaceae
Lonchocarpus sericeus (Poir.) H.B. & K.	Papilionaceae
Napoleona vogelii Hokk. Et Planch.	Lecythidaceae
Piliostigma thonningii (Schum.) Milne-Redhead	Caesalpiniaceae
Pseudospondias microcarpa (A. Rich.) Engl.	Anacardiaceae
Pterocarpus santalinoïdes l'Hér. ex. DC.	Papilionaceae
Terminalia glaucescens Planch. Ex Benth.	Combretaceae
Triplochiton scleroxylon K. Schum.	Sterculiaceae

RESUME

La nitrification dans les sols est un processus particulièrement critique dans les systèmes pauvres en nutriments comme la savane de Lamto (Afrique de l'Ouest) où l'azote est considéré comme le facteur limitant principal de la production primaire. Les faciès dominés par la Graminée *Hyparrhenia diplandra* sont connus pour exprimer de faibles potentiels de nitrification et ainsi éviter les pertes de nitrate. Nous avons utilisé des sites à faible/fort potentiel de nitrification comme modèles afin d'étudier si la végétation pouvait inhiber la nitrification, et les possibles conséquences en termes de performance de l'écosystème et de cycle de nutriments.

Nous avons montré la coexistence de sites à forts et faibles potentiels de nitrification. La stabilité de ces deux systèmes a été abordée *via* l'activité nitrate réductase d'*H. diplandra*, montrant une différence stable de modalité de nutrition entre sous-populations des deux sites.

Nous avons démontré un contrôle direct *in situ* des sous-populations d'*H. diplandra* sur la nitrification par une balance inhibition/stimulation. Cette conclusion a été étayée par l'observation de corrélations négatives entre densité racinaire et nitrification en site non nitrifiant.

La production épigée et le ratio épigée-hypogée du couvert en site nitrifiant sont très inférieurs au site non nitrifiant. On a observé chez les *H. diplandra* du site nitrifiant des indices de taille et de croissance inférieurs en serre, *in situ* et décroissant quand elles sont mélangées *in situ* aux individus du site non nitrifiant, suggérant une moins bonne compétitivité peut-être due à une moins bonne accessibilité à la ressource lumière.

Ces résultats suggèrent une moins bonne accessibilité à l'azote du couvert en site nitrifiant et l'existence de sous-populations de Graminées exprimant diverses caractéristiques intrinsèques différentes. De futures recherches devront s'intéresser au mécanisme d'inhibition et à la stabilité et dynamique de ces deux systèmes contrastés.

ABSTRACT

Soil nitrification is an important process that partly controls nitrogen availability for plants and nitrogen conservation at ecosystem level. This process is particularly critical in nutrient-poor systems like the wet savanna of Lamto (West Africa) where nitrogen is considered as the major factor limiting primary production. Savanna facies dominated by the grass *Hyparrhenia diplandra* are known to exhibit low levels of nitrification and thus avoid nitrate losses. We used high/low nitrification sites as models to investigate whether vegetation could inhibit nitrification, and the possible consequences in terms of ecosystem performance and nutrient behaviour.

We showed that *H. diplandra* sites exhibiting high- and very low-nitrification potential coexist. Stability of the two systems was suggested through studies of *H. diplandra* nitrate reductase enzyme, showing different nutrition modalities of the two subpopulations (*i.e.* from the two sites).

Through transplantation experiments, we provided the first *in situ* evidence of the direct control of nitrification by *H. diplandra* at subpopulation level, with an inhibition/stimulation balance. This conclusion has been sustained by negative correlations between root density and nitrification in low nitrification site.

Aboveground primary production and shoot-root ratio were much lower in high than in low nitrification sites. Size, growth and functional indices of *H. diplandra* from high-nitrification site were lower in the field and greenhouse compared to *H. diplandra* from low-nitrification-site. When mixed, they presented decreasing size indices, suggesting a lower competitive ability *via* lower light resource access.

These results suggested lower nitrogen availability in the high nitrification site and existence of distinct grass subpopulations exhibiting intrinsic different structural/functional characteristics. Further studies should deal with inhibition mechanisms, and stability and dynamics of these two contrasted systems.