

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR



ECOLE DOCTORALE: SCIENCES DE LA VIE, DE LA SANTE ET DE L'ENVIRONNEMENT

FACULTE: SCIENCES ET TECHNIQUES

THESE DE DOCTORAT

Année: 2016

N° d'ordre: 219

Spécialité: Génétique des Populations

Présentée par M. Tidiane DIEYE

Diversité génétique, structure et activité des communautés microbiennes des sols sous l'influence de *Jatropha curcas* L., évaluation de son potentiel de stockage du carbone dans les sols

Soutenue le 12 Mai 2016 devant le jury composé de :

Président:	M. Kandioura NOBA	Professeur titulaire	FST-UCAD
Rapporteurs:	M. Tahir DIOP M. Edmond HIEN M. Saliou FALL	Professeur titulaire Maître de Conférences Maître de Recherche	FST-UCAD Université Ouaga I Pr JKZ LCM-ISRA
Examineur:	M. Ibrahima DIEDHIOU	Maître Assistant	ENSA-Université de Thiès
Directeurs de thèse :	M. Dominique MASSE M. Mbacké SEMBENE	Directeur de Recherche Professeur titulaire	IRD-Montpellier FST-UCAD

REMERCIEMENTS

Je rends tout d'abord grâce à **Dieu** le tout puissant pour la vie, la santé et la force qu'il m'a octroyé et de m'avoir permis de réaliser cette thèse. Ces travaux de thèses ont été menés au Laboratoire d'Ecologie Microbienne des Sols et Agrosystèmes Tropicaux (LEMSAT) à Dakar. Le LEMSAT est un laboratoire mixte (IRD-ISRA-UCAD) qui s'insère actuellement dans le LMI IESOL (Laboratoire Mixte International Intensification Ecologique des sols cultivés en Afrique de l'Ouest).

J'exprime ma profonde gratitude au Dr Dominique MASSE, directeur de cette thèse qui m'avait accueilli dans son laboratoire depuis mes travaux de Master, m'a fait confiance et m'a encouragé à poursuivre la recherche à travers cette thèse.

Mes sincères remerciements au professeur Pape Mbacké SEMBENE, co-directeur de cette thèse, pour ses enseignements, son ouverture, sa disponibilité et ses conseils qui m'ont toujours été très utiles.

Mes remerciements vont également à l'endroit du Dr Komi ASSIGBETSE, mon responsable scientifique et encadrant, qui à travers le projet Jatropha-UA a rendu ces travaux de thèse possibles ; il n'a ménagé aucun effort pour la réussite de ces travaux.

Je remercie le président du jury, le Pr Kandiora NOBA, l'ensemble des rapporteurs : Pr Tahir DIOP, Dr Edmond HIEN et Dr Saliou FALL et le Dr Ibrahima DIEDHIOU (examineur et coordonnateur du projet Jatropha-UA) pour l'honneur qu'ils m'ont fait d'avoir accepté de juger ce travail, qui à travers leurs remarques, critiques et suggestions pertinentes sera amélioré.

J'exprime ma reconnaissance aux bailleurs du projet Jatropha-UA que sont l'Union Européenne et l'Union Africaine.

Je tiens aussi à remercier le Dr Laurent COURNAC, Directeur du LEMSAT et co-directeur du Laboratoire Mixte International IESOL, mais aussi les autres chercheurs tels que le Dr Yacine B NDOUR, Dr Moussa NDIENOR, Dr Jonathan VAUSSIÈRES, Dr Farma NDIAYE CISSE, Dr Frédéric FEDER, Dr Lydie LARDY, Dr Laure TALL, Dr Cathy C DAUPHIN, Dr Hassna FOUNOUNE, Dr Ndjido KANE, Dr Samuel LEGROS et Jean M MEDOC.

Mes remerciements à tous les enseignants et au personnel administratif de la faculté des sciences et techniques.

Je remercie Amadou Lamine DIENG et Mariama GUEYE pour leur initiation et assistance dans la réalisation des analyses en biologie moléculaire ; à côté de cette plate-forme, il y'a celle de l'enzymologie dirigée par Mahécor DIOUF qui, non seulement m'a formé et assisté dans les mesures des activités enzymatiques des sols, m'a également formé aux techniques d'extractions des fibres au Van Soest. A Moustapha Sané, Lamine Sagna, Amadou Diop (TRA) et Omar Faye, je dis merci ; sans eux les analyses en biochimie n'auraient été possibles. Je remercie Pourmera GASSAMA, Pape SARR, Aissatou DIOUF et l'ensemble du personnel du LAMA, je cite Alain PLENNECASSAGNE (ancien directeur), Luc FINNOT (Actuel directeur), Blaise MANE, Eli J DIATTA, Marie P TINE, Jacques H DIEME, M. SARR et Demba FAYE pour leur sympathie. Je remercie également l'ensemble du personnel du Laboratoire Mixte International (LMI) « Adaptation des Plantes et microorganismes associés aux Stress Environnementaux » (LAPSE), du Laboratoire National de Recherches sur les Productions Végétales (LNRPV) et de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agriculture (ENSA) en particulier Moustapha Diéré SAGNA pour l'acquisition des données morphologiques sur les plantations de Kaffrine.

Un grand merci à mes aînés, Dr Sidy DIAKHATE et Dr Abdoulaye BADIANE pour leurs conseils et apports scientifiques dans cette thèse, mais aussi à mes collègues étudiants, Richard HODOMIOU, Sitor NDOUR, Banna MBAYE (Mme SECK), Souleymane Ben Daouda DIATTA (Dr Stat), Rachel NTOMA, Christian NADIELINE, Oscar P MALOU, Fallilou

DIALLO, Esther LATTIN, Aby CISSE, Habibatou SAMB, Arona SONKO, Awa SY, Habibou ASSOUMA, Abdoulaye NDOUR, Diamé TINE, Adama TOUNKARA, Gorgui B TOURE, Joël SAMBOU, Donatien SAMBOU, Jean Noël W SENE, Paul D CISS, Moussou CISSOKHO, Rokhaya NDIAYE, Sophie DJIBA, Abdoulaye MARICO, Babacar D YOUM et Sénéba MAR (Mme NDIAYE) avec qui j'ai partagé des moments inoubliables remplis de discussions fructueuses ; je les remercie également pour leur soutiens, aides et conseils précieux.

A mes camarades de promotion du Master de BA (Union 2010) et de l'école doctorale ED-SEV et à Fama DIOP, je leur dis merci.

Je remercie tous mes amis, en particulier Mamadou Lamine NIASSE, pour leurs conseils et leur soutien.

Je rends hommage à tous ceux qui, de près ou de loin, ont eu à éclairer ma voie dans cette longue quête du savoir....

*A mon très cher père, à ma très
chère mère et à toutes les
familles Dièye, Séne, Niasse et
Fall, je leur dédie ce travail.*

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR
ECOLE DOCTORALE : SCIENCES DE LA VIE, DE LA SANTE ET DE L'ENVIRONNEMENT
FACULTE : SCIENCES ET TECHNIQUES
THESE DE DOCTORAT UNIQUE

Spécialité : Génétique des Populations

Nom et prénom du Candidat : Tidiane DIEYE

Titre de la thèse : Diversité génétique, structure et activité des communautés microbiennes des sols sous l'influence de *Jatropha curcas* L., évaluation de son potentiel de stockage du carbone dans les sols

Date et lieu de soutenance : 12 Mai 2016 à l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF)

Jury :				
Président:	M. Kandioutra NOBA	Professeur titulaire	FST– UCAD	
Rapporteurs:	M. Tahir DIOP	Professeur titulaire	FST– UCAD	
	M. Edmond HIEN	Maître de Conférences	Université Ouaga I Pr JKZ	
	M. Saliou FALL	Maître de Recherche	LCM-ISRA	
Examineur:	M. Ibrahima DIEDHIOU	Maître Assistant	ENSA-Université de Thiès	
Directeurs de thèse :	M. Dominique MASSE	Directeur de Recherche	IRD- Montpellier	
	M. Mbacké SEMBENE	Professeur titulaire	FST– UCAD	

Résumé :

Jatropha curcas L. (JCL) est une plante pouvant être utilisée à la fois comme productrice de biocarburant, un outil permettant la séquestration du carbone et un moyen pour réhabiliter les sols. *Jatropha curcas* est la seule plante productrice de biocarburant qui permet une réduction rapide des gaz à effet de serre. Cependant, les effets à long terme de cette culture sur les autres caractéristiques environnementales et surtout sur les composantes biologiques du sol ne sont pas clairement établis. C'est ainsi que nous nous sommes intéressés à l'impact de la culture de *Jatropha* sur l'activité et la diversité microbienne des sols ainsi que sur la disponibilité des nutriments. De plus, notre étude cherche à modéliser la dynamique du carbone dans des sols cultivés avec *Jatropha* pour mieux comprendre l'impact de *Jatropha* dans le stockage du carbone. Pour atteindre nos objectifs, des expérimentations ont été menées; d'abord dans des conditions de laboratoire, nous avons examiné l'impact de feuilles (fraîches et sénescents) de différentes provenances de *Jatropha* sur les cycles du carbone et de l'azote ainsi que sur la dynamique des communautés bactériennes des sols. Dans cette expérimentation, les feuilles sénescents jaunes et fraîches de quatre provenances de *Jatropha* dont deux originaires du Sénégal : Banfadjiré (Ban) et Madiop Boye (MB) ; une provenant de Mozambique (MOZ) et une de Tanzanie (TZ) ont été apportées à du sol et incubées pendant 120 jours (avec six sorties d'incubation : 0, 3, 28, 56, 90 et 120 jours). Cette expérimentation nous a montré que l'apport de feuilles de *Jatropha* au sol entraîne une augmentation de la diversité alpha et que la composition chimique des feuilles de *Jatropha* varie en fonction de la diversité phénotypique des provenances; ce qui impacte la diversité et la richesse spécifique de la communauté bactérienne totale. Les pourcentages de carbone récalcitrant des feuilles de *Jatropha* varient entre 70,01% et 73,33% du carbone total pour les feuilles fraîches et entre 72% et 77,33% pour les feuilles sénescents. Ainsi, *Jatropha* joue un rôle important dans le stockage du carbone dans les sols. Afin d'étudier les paramètres biologiques et chimiques des sols en réponse directe avec la culture de *Jatropha*, d'autres expérimentations ont été réalisées sur des sols rhizosphériques de six provenances de *Jatropha* dont trois locales (Kamonghone, Fois 1 et Lompoul) et trois exotiques (Inde, Tanzanie et Mozambique), mais aussi des systèmes de culture de *Jatropha* en association avec la culture du mil. Ces plantations de *Jatropha* ont été installées dans le village de Ngoui (13°59'44.07"N ; 15°35'52.15"O) de la région de Kaffrine (Sénégal). Cette étude a montré que la culture de *Jatropha* améliore la qualité biologique et chimique des sols. La communauté bactérienne rhizosphérique est façonnée par la diversité phénotypique de *Jatropha*. Les sols cultivés avec les provenances exotiques de *Jatropha* ont eu des diversités de Shannon relativement supérieures aux sols cultivés avec les provenances locales. Cependant, la culture de la provenance Lompoul qui est une provenance locale donc mieux adaptée aux conditions locales, entraîne une meilleure amélioration des teneurs en azote total et en nitrates et de la diversité de Shannon des communautés bactériennes nitrifiantes et dénitrifiantes. Les activités enzymatiques de la Béta-glu et de la phosphatase acide ainsi que la biomasse microbienne sont également plus élevées avec la culture de la provenance Lompoul. *Jatropha curcas* L., une plante pérenne productrice de biocarburant, ne présente pas d'influence négative sur les cultures annuelles associées telles que le mil.

Mots-clés : *Jatropha curcas* L. ; diversité alpha ; activité microbienne ; rhizosphère ; litière ; DGGE ; pyroséquençage ; métagénomique ; stockage du carbone.

Title: Genetic diversity, structure and activity of microbial communities in soil cultivated with *Jatropha curcas* L., evaluation of its soil carbon storage potential

Abstract:

The non edible biofuels production plant, *Jatropha curcas* L. (JCL) or pourghere, is an excellent tool for carbon sequestering and marginal land rehabilitation. It is the only biofuel producer that allows an immediate greenhouse gas reduction. However, low informations are available on the effect of this plant on soil biological component. Therefore our study is focusing on microbial activity, biodiversity and nutrients availability in soils cultivated with *J. curcas*. We are also studying the potential of this plant to sequester carbon in soil by modeling soil JCL litter carbon dynamic. Firstly, laboratory experimental was conducted to determine the impact of fresh and senescent leaves coming from on different *J. curcas* origin on carbon and nitrogen cycles and on soil bacteria community dynamic. Two of origin used in this study are local plants coming from to Senegal (Ban: Banfadjiré and MB: Madiop Boye) and the two others origin are exotic plants, one coming from to Mozambique (MOZ) and one from Tanzania (TZ). All leaf litter types of all origin were mulching on soil and incubated four month with six sampling dates (0, 3, 28, 56, 90 and 120 days). This experimentation shows that *Jatropha* leaf litter increase soil bacterial alpha diversity which varied among phenotypic *Jatropha* diversity of origin. JCL green leaves recalcitrant carbon content was estimated between 70.01% and 73.33% of total C content and senescent leaf litter between 72% and 77.33%. This finding suggests that *Jatropha* litter can contribute to a large part to soil carbon storage. The second experiment was conducted on field (Ngoui village of Kaffrine located at 13°59'44.07"N; 15°35'52.15"O in Senegal) for studying biological and chemical characteristic of soil rhizospheric of local (Kamonghone, Fois 1 and Lompoul) and exotic (Inde, Tanzanie and Mozambique) *J. curcas* plants but also of association of *Jatropha* with millet. Results of this study show that *Jatropha* cultivation increase biological and chemical soil quality. Like litter, *Jatropha* phenotypic diversity impact bacterial soil rhizospheric diversity which is relatively superior in soil cultivated with exotic than local plant. However soil parameter such as nitrogen, nitrates, microbial biomass, betaglucosidase and phosphatase activity but also nitrifying and denitrifying bacterial diversity are increased by Lompoul origin which is better adapted to local conditions. *Jatropha curcas*, perennial plant biocarburant producer may be associated with edible annual plants.

Keywords: *Jatropha curcas* L.; alpha diversity; microbial activity; rhizosphere; litter; DGGE; pyrosequencing; metagenomics; carbon storage.

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE.....	1
Chapitre I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	5
I-La culture de <i>Jatropha curcas</i> L (JCL)	5
I-1-Caractéristiques de JCL : botanique, écologie, productivité et biocarburant	5
I-2-La promotion de la culture de JCL au Sénégal.....	10
II-Le sol : propriétés et fonctions	10
II-1-Propriétés physico-chimiques du sol.....	10
II-2-Fonctionnement du sol	11
II-2-1-Fonction de transit du sol.....	11
II-2-2- Fonction de séquestration du carbone.....	11
III-Processus de décomposition des litières	12
III-1-Le flux entrant de litière.....	12
III-2-La composition chimique initiale des litières	13
III-3-Modification chimique de la litière et de la composition microbienne lors de la minéralisation	14
III-4-Les conditions environnementales.....	15
IV- Dynamique, diversité et caractérisation moléculaire des communautés microbiennes des sols. 16	
IV-1-Caractérisation moléculaire des communautés microbiennes des sols.....	16
IV-2-Diversité microbienne des sols.....	18
IV-3-Dynamique des communautés microbiennes dans les sols.....	19
Chapitre II : Influence des litières foliaires de <i>Jatropha curcas</i> L. sur la minéralisation du carbone et de l'azote et sur la dynamique des communautés bactériennes des sols en conditions contrôlées	21
I-Introduction.....	21
II-Matériel et Méthodes.....	22
II -1-Echantillonnage.....	22
II -1-1-Le sol	22
II -1-2-Les feuilles de <i>Jatropha</i>	22
II -2-Analyse physico-chimique	22
II -2-1-Caractéristiques physico-chimiques du sol.....	22
II -2-2- Caractérisation biochimique des feuilles	23
II-3- Incubation.....	24
II -4-Détermination de la minéralisation du carbone.....	25
II -5-La minéralisation de l'azote	26

II -6-Extraction de l'ADN génomique et purification	27
II -7-La réaction de polymérisation en chaîne ou PCR	27
II-8-Etude de la structure génétique des communautés bactériennes par PCR-DGGE	28
II -9- Analyses statistiques	29
III-Résultats	30
III-1- Composition biochimique des feuilles.....	30
III-2-Flux de CO ₂ et perte de carbone des litières pendant la décomposition	32
III-3-La minéralisation de l'azote.....	39
III-3-1-La Minéralisation nette de l'azote	39
III-3-2-La nitrification.....	40
III-3-3-L'ammonification.....	41
III-4-Structure des communautés bactériennes	43
III-5-Analyse en Composante Principale (ACP).....	45
IV-DISCUSSION	45
IV-1- Composition chimique des litières de <i>Jatropha</i>	45
IV -2-Minéralisation du carbone et de l'azote.....	46
IV-3-Activité et structure des communautés microbiennes au cours des processus de minéralisation	47
V-Conclusion.....	48
Chapitre III : Structure et activité des communautés microbiennes dans les sols cultivés avec <i>Jatropha curcas</i> L. au champ	50
I-Introduction.....	50
II-Matériel et méthodes	51
II-1-Site d'étude et échantillonnage	51
II-2-Analyse physico-chimique des sols	54
II-3-Détermination de la biomasse microbienne	54
II-4-La Respiration basale	54
II-5-Mesure des activités enzymatiques des microorganismes des sols.....	55
II-5-1- Dosage de l'activité de la bêta-glucosidase	55
II-5-2-Dosage de l'activité de la phosphatase acide.....	55
II-5-3-Dosage de l'activité de l'Uréease	55
II-6-Etude de la structure des communautés microbiennes de la rhizosphère de <i>Jatropha</i>	56
II-6-1- Extraction d'ADN.....	56
II-6-2-Amplification d'ADN ou réaction de polymérisation en chaîne (PCR)	56

II-6-2-1 Etude de la structure de la communauté bactérienne totale	56
II-6-2-2-Etude de la structure de la communauté fongique.....	57
II-6-2-3 Etude de la structure des communautés nitrifiantes avec le gène CTO	57
II-6-2-4-Etude de la structure des communautés dénitrifiantes avec le gène NirK.....	58
II-6-2-5-Etude de la structure des communautés diazotrophiques ou fixatrices d'azote.....	58
II-6-3-La migration sur gel à gradient dénaturant (DGGE)	60
II-7-Analyses statistiques	60
III-Résultats	61
III-1-Caractérisation des sols cultivés avec différentes provenances de Jatropha.....	61
III-1-1- Caractéristiques chimiques et biomasse microbienne des sols.....	61
III-1-2-Les activités microbiennes	63
III-1-2-1-Respiration basale	63
III-1-2-2-Activité enzymatique	63
III-1-3-Structure des communautés microbiennes	64
III-1-3-1-Structure de la communauté bactérienne totale.....	64
III-1-3-2-Structure de la communauté fongique.....	66
III-1-3-3-Structure des communautés bactériennes associées au cycle de l'azote : CTO, NirK et NifH.....	68
III-2-Influence de l'association de la culture de Jatropha avec celle du mil sur les caractéristiques des sols	73
III-2-1-Caractéristiques chimiques des sols	73
III-2-2-Activité microbienne	73
III-2-2-1-Respiration basale	73
III-2-2-2-Activité enzymatique	74
III-2-3-Structure des communautés bactériennes impliquées dans le cycle de l'azote	75
III-2-3-1-Structure des communautés nitrifiantes	75
III-2-3-2-Structure des communautés dénitrifiantes.....	77
III-2-3-3-Structure des communautés fixatrices d'azote (diazotrophiques).....	78
III-2-3-4-Structure de la communauté fongique.....	80
IV-Discussion.....	81
IV-1-Influence des différentes provenances de Jatropha sur les sols	81
IV-1-1-Composition chimique des sols.....	81
IV-1-2-Biomasse et activité microbienne.....	82
IV-1-3-Diversité et structure des communautés microbiennes	83

IV-2-Influence de l'association <i>Jatropha</i> -mil sur les caractéristiques chimiques et biologiques des sols.....	84
V-Conclusion.....	85
Chapitre IV : Analyse de la diversité, de la structure et de la dynamique des communautés bactériennes des sols sous l'influence de <i>Jatropha curcas</i> L. par une approche métagénomique	86
I-Introduction.....	86
II-Matériel et Méthodes.....	87
II-1-Description des échantillons	87
II-2-Utilisation des Nouvelles Technologies de Séquençage ou NTS.....	88
II-3-Analyse de la diversité et de la richesse spécifique.....	89
II-4-Analyse de la structure taxonomique	89
III-Résultats.....	90
III-1-Diversité taxonomique et dynamique bactérienne au cours de la décomposition de la litière foliaire de <i>Jatropha</i>	90
III-1-1-Diversité taxonomique.....	90
III-1-2- Dynamique taxonomique : une évolution r/K stratégistes entre Protéobactéries et Actinobactéries vs Firmicutes et Acidobactéries	92
III-1-3-Les méthodes d'ordination	94
III-1-3-1-Méthode d'ordination DCA	94
III-1-3-2-Méthode d'ordination MDS	95
III-2-Influence de la diversité phénotypique de <i>Jatropha</i> sur la diversité taxonomique des bactéries rhizosphériques.....	99
III-2-1-Diversité alpha.....	99
III-2-3-Structure des phyla en fonction des sols rhizosphériques des différentes provenances	101
IV-Discussion.....	104
IV-1- Structure, dynamique et diversité génétique des communautés bactériennes impliquées dans la minéralisation des litières foliaires de <i>Jatropha</i>	104
IV-1-1-Diversité alpha.....	104
IV-1-2-Dynamique des communautés bactériennes au cours du processus de minéralisation des résidus de <i>Jatropha</i>	106
IV-1-3-Structuration des communautés bactériennes.....	106
IV-2-Diversité phénotypique de <i>Jatropha</i> et diversité bactérienne rhizosphérique.....	107
V-Conclusion.....	108
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	110
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	113

Liste des abréviations

ACP : Analyse en composante principale
ADN: Acide Désoxyribonucléique
ANOVA : Analyse de variance
BET: Bromure d'éthidium
DGGE: Denaturing Gradient Gel Electrophoresis
dNTPs : Désoxyribonucléotide TriPhosphate
EDTA : Ethylène Diamine Tétracétique
ITS : Internal Transcribed Spacer
PCR : Réaction de Polymérisation en Chaîne
Pb : Paire de base
pH : Potentiel Hydrogène
p/v : poids par volume
rpm : Rotation par minute
UPGMA : Unweighted Pair Group Method Algorithm
UV : Ultraviolet
v/v : volume par volume
µl : Microlitre
µM : Micromole

Liste des Figures

Figure 1: Possibilités d'exploitation de la plante <i>Jatropha curcas</i> L. et de ses produits d'après Domergue et Pirot (2008).....	9
Figure 2 : Le sol : interrelation plante-communauté microbienne-atmosphère.....	16
Figure 3 : Flux de CO ₂ en mg.g (sol) ⁻¹ .jour ⁻¹ des sols amendés avec les feuilles de <i>Jatropha</i> des provenances Tanzanie (TZ1 : vert ; TZ2 : jaune), Mozambique (MOZ1 : vert ; MOZ2 : jaune), Banfadjiré (Ban1 : vert ; Ban2 : jaune) et Madiop Boye (MB1 : vert ; MB2 : jaune) et des sols non amendés (TEM : Témoin).....	33
Figure 4: Perte de carbone (%) des feuilles vertes et jaunes de la provenance Banfadjiré ; les points représentent les valeurs observées (les barres sont les écart-types) et les lignes représentent les valeurs attendues par le modèle.	35
Figure 5: Perte de carbone (%) des feuilles vertes et jaunes de la provenance Madiop Boye ; les points représentent les valeurs observées (les barres sont les écart-types) et les lignes représentent les valeurs attendues par le modèle.	36
Figure 6: Perte de carbone (%) des feuilles vertes et jaunes de la provenance Mozambique ; les points représentent les valeurs observées (les barres sont les écart-types) et les lignes représentent les valeurs attendues par le modèle.	37
Figure 7: Perte de carbone (%) des feuilles vertes et jaunes de la provenance Tanzanie ; les points représentent les valeurs observées (les barres sont les écart-types) et les lignes représentent les valeurs attendues par le modèle.	38
Figure 8 : Minéralisation nette de l'azote des sols amendés avec les feuilles de <i>Jatropha</i> des différentes provenances (TZ=Tanzanie ; MOZ=Mozambique ; Ban=Banfadjiré ; MB=Madiop Boye ; ¹ =feuilles vertes ; ² =feuilles jaunes ; pour chaque sortie d'incubation, les lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes : p < 0,05).....	40
Figure 9 : Nitrification des sols amendés avec les feuilles de <i>Jatropha</i> des différentes provenances (TZ=Tanzanie ; MOZ=Mozambique; Ban=Banfadjiré; MB=Madiop Boye ; 1=feuilles vertes ; 2=feuilles jaunes ; pour chaque sortie d'incubation, les lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes : p < 0,05).....	41
Figure 10 : Ammonification des sols amendés avec les feuilles de <i>Jatropha</i> des différentes provenances (TZ=Tanzanie ; MOZ=Mozambique ; Ban=Banfadjiré ; MB=Madiop Boye ; ¹ =feuilles vertes ; ² =feuilles jaunes ; pour chaque sortie d'incubation, les lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes : p < 0,05).....	42
Figure 11 : Dendrogramme UPGMA des communautés bactériennes à 0, 3, 28, 56, 90 et 120 jours (Ban=Banfadjiré ; MB= Madiop Boye ; MOZ=Mozambique ; Ctrl=témoin ; TZ=Tanzanie ; 1=résidu vert et 2=résidu jaune).....	44

Figure 12: Analyse en composante principale des variables azote minéral, ratio C/N, le cumul des dégagements de CO ₂ et la diversité de Shannon des différents traitements au cours du temps.	45
Figure 13: Localisation du site d'étude (Village de Ngoui de la région de Kaffrine).....	53
Figure 14 : Gel DGGE (haut) et dendrogramme de similarité (bas) des communautés bactériennes de la rhizosphère de <i>Jatropha</i> des différentes provenances (IN : Inde, TZ : Tanzanie, MOZ : Mozambique, FO : Fois 1, KAM : Kamonghone, LOMP : Lompoul, TEM : Témoin).	65
Figure 15 : Gel DGGE (haut) et dendrogramme de similarité (bas) des communautés fongiques de la rhizosphère de <i>Jatropha</i> des différentes provenances (IN : Inde, TZ : Tanzanie, MOZ : Mozambique, FO : Fois 1, KAM: Kamonghone, LOMP : Lompoul, TEM : Témoin).	67
Figure 16 : Gel DGGE (haut) et dendrogramme de similarité (bas) des communautés bactériennes nitrifiantes de la rhizosphère de <i>Jatropha</i> des différentes provenances (IN: Inde, TZ: Tanzanie, MOZ: Mozambique, FO : Fois 1, KAM : Kamonghone, LOMP : Lompoul, TEM : Témoin).	70
Figure 17 : Gel DGGE (haut) et dendrogramme de similarité (bas) des communautés bactériennes dénitrifiantes de la rhizosphère de <i>Jatropha</i> des différents provenances (IN: Inde, TZ: Tanzanie, MOZ: Mozambique, FO : Fois 1, KAM: Kamonghone, LOMP : Lompoul, TEM : Témoin).	71
Figure 18 : Gel DGGE (haut) et dendrogramme de similarité (bas) des communautés bactériennes fixatrices d'azote de la rhizosphère de <i>Jatropha</i> des différentes provenances (IN: Inde, TZ : Tanzanie, MOZ : Mozambique, FO : Fois 1, KAM : Kamonghone, LOMP : Lompoul, TEM : Témoin).	72
Figure 19 : Activités enzymatiques de la bêta-glucosidase, de la Phosphatase acide et de l'Uréase des sols rhizosphériques des plantes et du témoin (JAPure= culture pure de <i>Jatropha</i> , JA-MIL= <i>Jatropha</i> en association avec le mil, MIL=culture pure de mil).	75
Figure 20 : Gel DGGE (droite) et dendrogramme de similarité (gauche) des communautés nitrifiantes de la rhizosphère de <i>Jatropha</i> des différents systèmes de culture (JAP=culture pure de <i>Jatropha</i> , JAM= <i>Jatropha</i> en association avec le mil), celle du mil (MIL) et du témoin non cultivé (TEM).	76
Figure 21 : Diversité de Shannon des communautés bactériennes nitrifiantes de la rhizosphère de <i>Jatropha</i> des différents systèmes de culture (JAPure=culture pure de <i>Jatropha</i> , JA-MIL= <i>Jatropha</i> en association avec le mil), celle du mil (MIL) et du témoin non cultivé.	76
Figure 22 : Diversité de Shannon des communautés bactériennes dénitrifiantes de la rhizosphère de <i>Jatropha</i> des différents systèmes de culture (JAPure=culture pure de <i>Jatropha</i> , JA-MIL= <i>Jatropha</i> en association avec le mil), celle du mil (MIL) et du témoin non cultivé.	77
Figure 23 : Gel DGGE (droite) et dendrogramme de similarité (gauche) des communautés dénitrifiantes de la rhizosphère de <i>Jatropha</i> des différents systèmes de culture (JAP=culture pure de <i>Jatropha</i> , JAM= <i>Jatropha</i> en association avec le mil), celle du mil (MIL) et du témoin non cultivé (TEM).	78
Figure 24 : Diversité de Shannon des communautés bactériennes fixatrices d'azote (Diazotrophiques) de la rhizosphère de <i>Jatropha</i> des différents systèmes de culture (JAPure=culture pure de <i>Jatropha</i> , JA-MIL= <i>Jatropha</i> en association avec le mil), celle du mil (MIL) et du témoin non cultivé.	79

Figure 25 : Gel DGGE (droite) et dendrogramme de similarité (gauche) des communautés fixatrice d'azote de la rhizosphère de Jatropha des différents systèmes de culture (JAP=culture pure de Jatropha, JAM=Jatropha en association avec le mil), celle du mil (MIL) et du témoin non cultivé (TEM).	79
Figure 26 : Diversité de Shannon des communautés fongiques de la rhizosphère de Jatropha des différents systèmes de culture (JAPure=culture pure de Jatropha, JA-MIL=Jatropha en association avec le mil), celle du mil (MIL) et du témoin non cultivé.....	80
Figure 27 : Gel DGGE (droite) et dendrogramme de similarité (gauche) des communautés fongiques de la rhizosphère de Jatropha des différents systèmes de culture (JAP=culture pure de Jatropha, JAM=Jatropha en association avec le mil), celle du mil (MIL) et du témoin non cultivé (TEM).	81
Figure 28: Richesse spécifique et diversité de Shannon des sols en fonction des provenances (A: TRUE=provenances locales, FALSE=provenances exotiques), du type de litière foliaire apportée (B : TRUE=apport de feuilles, FALSE=sans apport) et du temps d'incubation (C : TRUE= début d'incubation, FALSE=fin d'incubation).	91
Figure 29 : Corrélation entre les abondances relatives des Protéobactéria et les abondances relatives des Acidobactéria, des Actinobactéria et des Firmicutes.....	93
Figure 30: DCA des sols en fonction de la durée de l'incubation, du type de litière et de la provenance.	94
Figure 31: MDS pour le Phylum des Firmicutes en fonction des provenances de Jatropha, du degré de maturité des feuilles (type de litière) et du temps d'incubation (Sample Type).....	96
Figure 32: MDS pour le phylum des Acidobacteria en fonction des provenances de Jatropha, du degré de maturité des feuilles (type de litière) et du temps d'incubation (Sample Type).	97
Figure 33: MDS pour le phylum Protéobactéria en fonction des provenances de Jatropha, du degré de maturité des feuilles (type de litière) et du temps d'incubation (Sample Type).....	98
Figure 34 : MDS pour le phylum des Actinobactéria en fonction des provenances de Jatropha, du degré de maturité des feuilles (type de litière) et du temps d'incubation (Sample Type).	99
Figure 35 : Estimation de la diversité alpha : richesse spécifique (Chao1) et indice de diversité de Shannon des communautés bactériennes de la rhizosphère des différentes provenances (Sample Type) de Jatropha.....	100
Figure 36 : Richesse spécifique (Chao1) et indice de diversité de Shannon des communautés bactériennes de la rhizosphère des différentes provenances de Jatropha : provenances locales à droite et provenances exotiques à gauche (TRUE= provenances locales, FALSE=provenances exotiques)....	101
Figure 37 : MDS pour les Firmicutes de la rhizosphère de Jatropha des provenances Foies 1, Kamonghone, Lompoul, Inde, Mozambique et Tanzanie.	102
Figure 38 : MDS pour les Protéobactéria de la rhizosphère de Jatropha des provenances Foies 1, Kamonghone, Lompoul, Inde, Mozambique et Tanzanie.	102
Figure 39 : MDS pour les Acidobactéria de la rhizosphère de Jatropha des provenances Foies 1, Kamonghone, Lompoul, Inde, Mozambique et Tanzanie.	102

Figure 40 : MDS pour les Actinobactéria de la rhizosphère de Jatropha des provenances Fois 1, Kamonghone, Lompoul, Inde, Mozambique et Tanzanie.	102
Figure 41 : NMDS des rhizosphères des différentes provenances de Jatropha et des 5 phyla les plus abondants (Acidobactéria, Actinobactéria, Chloroflexi, Firmicutes et Protéobactéria).	103
Figure 42 : Analyse en correspondance pour les 5 phyla les plus abondants des 200 OTU les plus abondantes de la rhizosphère des différentes provenances de Jatropha.	104

Liste des Photos

Photo 1 : Culture de <i>Jatropha curcas</i> (Crédit photo : T. Dièye, Kaffrine 2013).....	7
Photo 2 : <i>Jatropha curcas</i> , un candidat potentiel pour la production de biodiesel et de développement durable : (a) capacité de se développer dans diverses conditions (rocheuse) avec (b, d) des graines contenant une grande quantité d'huile et un grand potentiel de séquestration du carbone dans les sols (c) (source : Abhilash <i>et al.</i> , 2011).	7
Photo 3 : Extracteur de fibres (Crédit photo : T.Dièye 2013)	24
Photo 4 : Chromatographie à phase gazeuse (Crédit photo : T.Dièye 2013)	26
Photo 5 : Cuve électrophorèse « Ingeny phorU » à gauche et coulage du gel DGGE à droite (Crédit photo : T.Dièye 2013)	29

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques biochimiques des feuilles de <i>Jatropha</i>	31
Tableau 2: ANOVA à deux facteurs (origine et degré de maturité des feuilles) sur les teneurs en C et N et le ratio C/N	32
Tableau 3 : Paramètres du modèle de décomposition des feuilles avec k_1 , le taux de décomposition du carbone labile et k_2 , le taux de décomposition du carbone récalcitrant des résidus verts et jaunes (les écart-types sont mis entre parenthèse).....	34
Tableau 4 : Granulométrie des sols des parcelles « association » et « provenance ».....	52
Tableau 5: Paramètres morphologiques des différentes provenances de <i>Jatropha</i> à 27 mois après levée (24 mois après transplantation à Ngoui).....	53
Tableau 6 : Description des amorces utilisées dans les réactions de polymérisation en chaîne.....	59
Tableau 7 : Caractéristiques chimiques et biologiques des sols de la rhizosphère des différentes provenances de <i>Jatropha</i>	62
Tableau 8 : Activités enzymatiques de la Béta-glucosidase, de la Phosphatase acide et de l'Uréease de la rhizosphère des différentes provenances de <i>Jatropha</i>	64
Tableau 9 : Diversité de Shannon des communautés bactériennes totales et communautés bactériennes impliquées dans le cycle de l'azote (nitrifiantes, dénitrifiantes et diazotrophiques) ainsi que celle des communautés fongiques.	69
Tableau 10 : Caractéristiques chimiques et biologiques des différents systèmes de culture (JAP culture pure de <i>Jatropha</i> , JAM : culture de <i>Jatropha</i> associé avec du mil, MIL : culture de mil).	74
Tableau 11 : Tableau récapitulatif des échantillons utilisés pour l'identification et l'étude de la diversité et de la dynamique des communautés bactériennes associées à la décomposition de feuilles de <i>Jatropha</i>	88

Liste des annexes

ANNEXE 1 : Systématique de *Jatropha curcas* L.

ANNEXE 2 : Réactifs utilisés pour le Van Sœst

ANNEXE 3 : Abondances relatives des phyla au cours du temps

ANNEXE 4 : Amorces et codes-barres utilisés pour le pyroséquençage

ANNEXE 5 : Valorisation des travaux de thèse

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Une agriculture basée sur les plantes productrices de biocarburant offre un double avantage. Premier avantage, une production de carburant permettant la réduction de l'utilisation des énergies fossiles. Secondairement, elle permet de stocker du carbone dans la biomasse de la plante et dans le sol (Woomer *et al.*, 2004). Le stockage du carbone dans les sols est un processus qui permet une amélioration de la qualité de l'eau, une restauration des sols et des écosystèmes dégradés et une augmentation de la productivité (Lal, 2004).

Dans les pays en voie de développement, la production de bioénergie est une filière prometteuse du fait des nombreuses opportunités auxquelles elle est associée. Par exemple les filières des bioénergies pourraient participer aussi bien à l'amélioration du secteur agricole et énergétique de ces pays (Archer, 2015), mais aussi à la réduction des gaz à effet de serre (Sims, 2003 ; Tomaschek *et al.*, 2012 ; Maltsoğlu *et al.*, 2013 ; Yang *et al.*, 2014) à travers la séquestration du carbone. Ces gaz à effet de serre participent au piégeage des rayonnements infrarouges émis par la terre, impliquant ainsi un réchauffement de l'atmosphère (Noble and Scholes, 2001). Dans le contexte du lancement officiel du programme « 4 pour 1000 » lors de la Conférence de Paris sur le climat (COP21 : du 30 novembre 2015 au 12 décembre 2015), *Jatropha curcas* L. pourrait constituer une solution pour l'atténuation du réchauffement climatique. Le programme « 4 pour 1000 » a pour objectif d'augmenter les stocks de carbone de 4 kg de carbone par hectare par an dans un sol ayant déjà stocké une tonne de carbone à l'hectare (RFI, 2015).

L'intérêt particulier porté sur les biocarburants fait ressortir ainsi l'importance environnementale associée à leur utilisation (Lin *et al.*, 2011). La production de biocarburant comme source d'énergie renouvelable (Wani *et al.*, 2012), dans beaucoup de pays africains, est principalement due à la nécessité de lutter contre l'augmentation des prix du carburant et de booster l'économie rurale (Behera *et al.*, 2010 ; Amigun *et al.*, 2011 ; Jumbe et Mkondiwa, 2013). Ces dernières années, on a assisté, dans ce continent à une promotion de la culture du pourghère (*Jatropha curcas* L.) pour la production de biocarburant (Ndong *et al.*, 2009). Cette plante constitue la principale ressource non comestible pour la production de biodiesel en Afrique (Yang *et al.*, 2014). *Jatropha* participe au stockage du carbone lorsqu'il est cultivé sur des terrains incultes et dans des conditions de dégradation avancée (Romijn, 2011). La culture

de ces plantes productrices de biocarburants sur les terres marginales peut également participer à leur restauration et réduire d'éventuelles compétitions avec les cultures vivrières dans les milieux fertiles (Yang *et al.*, 2014). Ainsi, plusieurs pays ont adopté la politique de promotion de *Jatropha* pour atténuer la compétition entre la culture des biocarburants et des cultures vivrières (Maltsoglou *et al.*, 2013). De plus, Les plantations de *Jatropha* apportent une quantité importante de litière ce qui constitue une source de matière organique donc de carbone et de différents nutriments pour des sols soudano-sahéliens qui sont généralement de fertilité réduite (Bationo *et al.*, 2007).

La diversité phénotypique intraspécifique des plantes influe sur La composition chimique des litières (Lecerf et Chauvet, 2008). La transformation de ces litières dans le sol, sous l'influence de la composition biochimique des litières elles-mêmes, des types de sols et des communautés microbiennes (Sall, 2004), détermine le bilan des nutriments. La composition de ces communautés microbiennes ainsi que leurs activités dans le sol dépendent des plantes parce que : (1) ces dernières constituent pour les communautés microbiennes une source énergétique (carbohydrates) et nutritive (azote, phosphore, etc..), (2) produisent des composés de qualité différente pouvant stimuler ou inhiber le développement de micro-organismes (Hartmann *et al.*, 2008) et enfin (3) les plantes peuvent elles-mêmes concurrencer les micro-organismes dans l'utilisation des éléments nutritifs (Kuzyakov et Xu, 2013). Acteurs de la décomposition et de la minéralisation de la matière organique, les communautés microbiennes jouent un rôle essentiel dans les cycles biogéochimiques (Rincon-Florez *et al.*, 2013) tels que ceux du carbone, de l'azote (Yang *et al.*, 2013) et du phosphore (Jones et Oburger, 2011). Ces communautés microbiennes participent ainsi à l'amélioration de la qualité des sols ainsi qu'à la productivité des plantes (Hill *et al.*, 2000) car permettant une augmentation de la disponibilité des nutriments qui sont essentiels à la croissance de ces plantes (Rincon-Florez *et al.*, 2013). Le sol rhizosphérique est le siège d'échanges de nutriments entre plante et les différentes communautés vivant aux alentours des racines ; ces transferts de nutriments entraînent une augmentation de la densité microbienne (Rincon-Florez *et al.*, 2013).

Des études antérieures ont montré une modification de la composition des communautés microbiennes avec la culture de *Jatropha* (Chaudhary *et al.*, 2012). Cependant, dans les études de Dieng *et al.* (2014), la structure de la communauté bactérienne totale n'a pas été affectée par la culture de *Jatropha*. De plus, l'impact de la culture de *Jatropha* sur les communautés bactériennes spécifiques impliquées dans le cycle de l'azote ainsi que l'impact de sa litière sur

la structuration de la communauté bactérienne totale restent mal connus. A notre connaissance, aucune étude n'a encore été réalisée sur l'identification des communautés microbiennes impliquées dans la minéralisation des litières de *Jatropha* et une seule étude métagénomique s'est penchée sur les sols cultivés avec *Jatropha* (Agarwal *et al.*, 2015).

L'étude des communautés microbiennes des sols est capitale car ces communautés sont des organismes très sensibles face aux perturbations et ont une grande capacité à donner des informations immédiates sur la santé des sols (Rincon-Florez *et al.*, 2013). L'utilisation des techniques moléculaires dans les études de la diversité des communautés microbiennes des sols permet d'améliorer nos compréhensions sur la distribution et la diversité des organismes dans les sols (Hill *et al.*, 2000).

Au Laboratoire LMI IESOL (Laboratoire Mixte International Intensification Ecologique des sols cultivés en Afrique de l'Ouest), dans le cadre du projet *Jatropha* Union Africaine ("Mise au point de technologies de production et d'utilisation durable de biocarburant de *Jatropha curcas* pour une réduction de la pauvreté rurale en Afrique de l'Ouest"), nous nous sommes intéressés à l'impact de la culture de *Jatropha* sur l'activité, la diversité et la dynamique des communautés microbiennes et sur la disponibilité des nutriments dans les sols. Ce travail de cette thèse a pour but d'étudier l'influence de la diversité phénotypique de *Jatropha* sur la disponibilité des nutriments et sur l'activité et la diversité des communautés microbiennes des sols.

Le premier objectif spécifique (OS1) de cette thèse est de déterminer l'impact de la diversité phénotypique de *Jatropha* sur la qualité des litières et ainsi sur les cycles du carbone et de l'azote. Comme deuxième objectif spécifique (OS2), nous devons étudier l'influence de ces litières de *Jatropha* sur la qualité biologique des sols et spécifiquement sur les communautés bactériennes.

Ces deux objectifs spécifiques devaient nous permettre d'évaluer l'influence de *Jatropha* sur les paramètres biologiques et chimiques des sols indirectement via sa litière foliaire. Ainsi, nous nous sommes fixés comme troisième et quatrième objectifs spécifiques de déterminer l'influence directe (sol rhizosphérique) de la diversité de *Jatropha* et de l'introduction de plantes exotiques sur le fonctionnement des sols (OS3) et d'étudier l'influence que pourrait avoir cette plante sur la fertilité des sols des cultures vivrières associées (OS4).

Ce manuscrit de thèse se subdivise ainsi en quatre chapitres. Le premier chapitre fait une synthèse bibliographique sur la culture et les caractéristiques de *Jatropha curcas* notamment dans la production de biocarburant, la promotion de la culture de cette plante au Sénégal et de sa productivité. La synthèse bibliographique relate aussi les caractéristiques physico-chimiques et biologiques des sols ainsi que les processus de minéralisation des litières dans le sol.

Le deuxième chapitre est consacré à la modélisation de la dynamique du carbone des litières de *Jatropha* et à l'étude de la minéralisation de l'azote et de la dynamique de la structure des communautés bactériennes associées à la décomposition de ces litières.

Dans le troisième chapitre de la thèse, l'influence de la rhizosphère de *Jatropha* de provenances différentes et des systèmes de culture de *Jatropha* associé avec le mil sur la structure des communautés bactériennes impliquées dans le cycle de l'azote à savoir les communautés nitrifiantes, dénitrifiantes et des communautés fixatrices d'azote atmosphérique est mise en évidence. Dans ce troisième chapitre, l'impact de la culture de *Jatropha* sur les propriétés chimiques du sol ainsi que sur les communautés fongiques est également étudié.

Une analyse de la diversité, de la structure et de la dynamique des communautés bactériennes des sols sous l'influence de *Jatropha curcas* L. par une approche métagénomique fait l'objet du quatrième et dernier chapitre.

Cette thèse est terminée par une conclusion générale constituée d'une synthèse de nos résultats, d'une formulation de quelques recommandations et de quelques perspectives d'étude.

Chapitre I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I-La culture de *Jatropha curcas* L (JCL)

I-1-Caractéristiques de JCL : botanique, écologie, productivité et biocarburant

Jatropha curcas L. est une plante buissonnante de la famille des Euphorbiaceae (Hammer et Heller, 1998 ; Assogbadjo *et al.*, 2009). Il est résistant à la sécheresse et peut être cultivé même en dessous de 200 mm/an. Cette plante est bien adaptée aux conditions semi-arides et aux terres marginales, perd ses feuilles pendant la saison sèche ou lorsque la pluviométrie est réduite (Hammer et Heller, 1998 ; Achten *et al.*, 2007 ; Abugre *et al.*, 2011 ; Ong *et al.*, 2011 ; Singh et Ghoshal, 2011). Cependant, de bonnes conditions environnementales sont nécessaires pour une bonne productivité de *Jatropha* (Achten *et al.*, 2007). Les sols profonds, de texture sableuse à structure grumeleuse où son système racinaire peut se développer de manière optimale (Domergue et Piro, 2008) semblent mieux convenir à la culture de *Jatropha* et une pluviométrie d'au moins 500 mm est nécessaire pour une bonne productivité. La plantation de *Jatropha* peut se faire par semis direct, pépinière ou propagation par bourgeonnement végétatif (Eijck *et al.*, 2012). Cette plante développe un excellent système racinaire (Behera *et al.*, 2010) ; avec une racine pivotante et des racines latérales en semis direct (Achten *et al.*, 2007). La méthode de propagation par bourgeonnement végétatif permet à la plante de se développer plus vite ; cependant, la plante ne développe pas de racine pivotante. Ainsi, la mise en place d'une plantation de *Jatropha* par propagation végétative serait inadéquate sur des sols arides (Eijck *et al.*, 2012).

La culture de *Jatropha* (photos 1 et 2) n'exige pas de grands investissements ni de grandes machineries (Pandey *et al.*, 2012), ne demande pas beaucoup d'intrants (engrais, pesticides) et n'entre pas en compétition avec les cultures vivrières annuelles (Hammer et Heller, 1998 ; Singh et Ghoshal, 2011). Cette plante produit des graines dès la première ou la deuxième année de plantation (Dia *et al.*, 2010). La fertilisation organique semble mieux adaptée pour la culture de *Jatropha* par rapport à l'engrais minéral (Varadharajan *et al.*, 2008). De plus, les cultures de *J. curcas* peuvent être amendées par les tourteaux issus de l'extraction de l'huile de *J. curcas* lui-même (Behera *et al.*, 2010) pour l'augmentation des rendements de cultures dans le cadre d'une production de biocarburant. Ces tourteaux constituent un excellent

fertilisant organique, donnant de meilleurs rendements comparés à l'engrais chimique (apport de NPK commercial). L'utilisation de ces tourteaux comme amendement organique sur les cultures vivrières fait l'objet de controverses du fait de sa toxicité (présence de curcine et de phorbol-esters) ; ainsi, leur utilisation sur les cultures de *J. curcas* pourrait être conseillée aux agriculteurs et aux producteurs de cette filière. Les rendements en culture pure de Jaropha ne dépassent pas 500 kg ha⁻¹ au Sénégal dans la vallée du fleuve (Terren *et al.*, 2012), 300 kg ha⁻¹ au Burkina, mais pouvant atteindre 1.250 kg ha⁻¹ dans une situation de mise culture sur des sols fertiles dans ce pays (Derra, 2014) et 875 kg ha⁻¹ en Tanzanie (Wahl *et al.*, 2009).

Les études de Augustus *et al.* (2002) ont montré que les graines de Jatropha contiennent 19 % d'huile, 4,7 % de polyphénol et 3,9 % d'hydrocarbure. Cette huile est composée principalement d'acides gras insaturés (acide oléique et acide linoléique ; autour de 80 %) (Martínez-Herrera *et al.*, 2006 ; Domergue et Pirot, 2008) et d'acides gras saturés (acide palmitique et stéarique). Cette forte proportion d'acides gras insaturés rend l'huile instable et facilite son oxydation et son acidification (Domergue et Pirot, 2008). L'huile non comestible issue des graines de Jatropha (Ong *et al.*, 2011) est considérée comme une alternative au diesel (Openshaw, 2000 ; Behera *et al.*, 2010 ; Ong *et al.*, 2011) conforme aux standards internationaux (Daudet *et al.*, 2011). Les biodiesels sont de longues chaînes d'esters d'acide gras mono-alkyl produits à partir des ressources biologiques renouvelables telles que les huiles végétales et les graisses animales (Yang *et al.*, 2014). Les biodiesels sont biodégradables, non toxiques et n'ont pas d'effet néfaste sur l'environnement comparés aux pétro-diesels et peuvent être utilisés sur des moteurs diesels (Silitonga *et al.*, 2011). La trans-ésterification permet de réduire la viscosité des huiles végétales permettant ainsi l'amélioration de sa qualité avec des proportions similaires (Lin *et al.*, 2011) ou meilleures (Silitonga *et al.*, 2011) que le diesel.



Photo 1 : Culture de *Jatropha curcas* (Crédit photo : T. Dièye, Kaffrine 2013)

La popularité de cette plante vient du fait qu'en plus de la production d'huile, les tourteaux peuvent être utilisés pour la production de biogaz (Eijck *et al.*, 2012) et plusieurs parties de la plante sont utilisées en médecine traditionnelle et pour la fabrication de savon (Hammer et Heller, 1998 ; Varadharajan *et al.*, 2008 ; Behera *et al.*, 2010).



Photo 2 : *Jatropha curcas*, un candidat potentiel pour la production de biodiesel et de développement durable : (a) capacité de se développer dans diverses conditions (rocheuse) avec (b, d) des graines contenant une grande quantité d'huile et un grand potentiel de séquestration du carbone dans les sols (c) (source : Abhilash *et al.*, 2011).

Les études de Reddy *et al.* (2015) menées dans un climat semi-aride dans le sud de l'Inde montrent que les plantations de *Jatropha* apportent une grande quantité de litière au sol avec des valeurs annuelles de 2,74 tonnes ha⁻¹, 2,48 tonnes ha⁻¹, 2,41 tonnes ha⁻¹, 1,81 tonnes ha⁻¹, 1,79 tonnes ha⁻¹ respectivement avec des écartements de 2mx2m, 3mx2m, 3mx3m, 4mx2m, 4mx3m. La majeure partie de ces litières est d'origine foliaire et assure le retour des composants biologiques au sol dont la décomposition est essentielle pour le flux des nutriments (Patrício *et al.*, 2012). Les résidus de *Jatropha curcas* L. (JCL) ont une faible valeur nutritive donc non utilisés comme aliment de bétail (Openshaw, 2000). Les plantations de *Jatropha* apportent ainsi une grande quantité de litière donc de matière organique aux sols (Reddy *et al.*, 2015) qui constituent une excellente source de carbone organique pour ces sols (Zhang *et al.*, 2013).

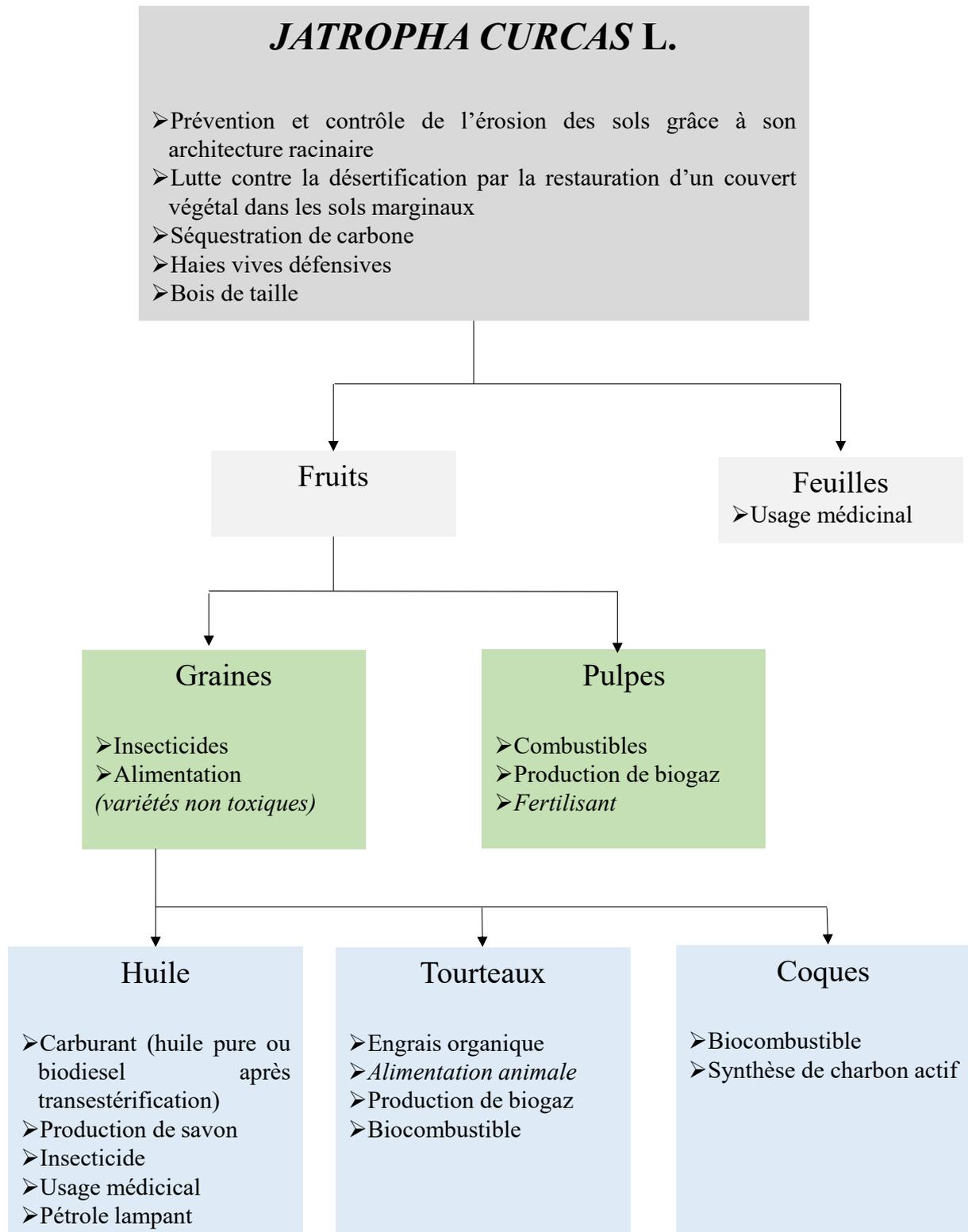


Figure 1: Possibilités d'exploitation de la plante *Jatropha curcas* L. et de ses produits d'après Domergue et Pirot (2008).

I-2-La promotion de la culture de JCL au Sénégal

Comme la plupart des pays africains, le secteur énergétique sénégalais se caractérise par une forte dépendance vis-à-vis des importations de pétrole pour faire face aux besoins du pays en énergie et particulièrement pour la production d'énergie électrique (Dia *et al.*, 2010). Par exemple, la production d'électricité de ce pays est essentiellement dépendante de l'importation du pétrole (Thiam *et al.*, 2012). Cette dépendance vis-à-vis de l'importation de pétrole fait que le secteur énergétique de ce pays éprouve d'énormes difficultés. L'insertion des biocarburants dans les espaces agricoles sénégalais pourrait permettre de lutter contre la dépendance énergétique du Sénégal (Dia *et al.*, 2010).

Au Sénégal, *Jatropha curcas* a été considéré comme biocarburant prometteur du fait de sa grande adaptabilité aux conditions climatiques et socio-économiques du pays (Archer, 2015). Ainsi, la plante est retrouvée dans presque toutes les régions du pays surtout à travers d'anciennes plantations, sous forme de haies vives (Enda ENERGIE, 2010) pour la délimitation des parcelles (Domergue et Pirot, 2008). Cependant, *Jatropha curcas* peut être cultivé en association avec les cultures vivrières telles que le mil, le sorgho, le maïs et l'arachide (Diédhiou *et al.*, 2012). Pour la mise en place d'une culture intercalaire, il est préférable que les plants de *Jatropha* soient issus de graines et non de boutures, car le système racinaire des plants semés directement entre moins en compétition avec le système racinaire des cultures associées (Hammer et Heller, 1998 ; Domergue et Pirot, 2008) pour l'eau et les nutriments. Pour éviter une compétition pour la lumière solaire, une distance de plantation de trois à cinq mètres est nécessaire pour l'association de *Jatropha* avec d'autres cultures (Eijck *et al.*, 2012).

II-Le sol : propriétés et fonctions

II-1-Propriétés physico-chimiques du sol

Partie superficielle meuble de l'écorce terrestre, le sol est situé à l'interface de l'atmosphère, de la lithosphère, de l'hydrosphère et de la biosphère (Mostajir *et al.*, 2012). Il est considéré comme un lieu dans lequel interagissent les parties solides, liquides, gazeuses et les éléments biologiques (Schmidt *et al.*, 2011) et constitue un important lieu pour les cycles biogéochimiques tels que ceux de l'eau, du carbone, de l'azote et du phosphore (Mostajir *et al.*, 2012).

L'une des composantes essentielles du sol est la matière organique (MO) ; cette dernière assure la cohésion des autres constituants du sol contribuant à sa structure et sa stabilité (Balesdent, 1996). Elle provient principalement des résidus de plantes (litière, exsudats racinaires) dont l'apport et la transformation varient en fonction des végétations, du sol et du type de climat (Metay *et al.*, 2009). La MO a de nombreuses propriétés qui lui confèrent des fonctions essentielles dans les agroécosystèmes et en font un élément important dans la fertilité des sols (Balesdent, 1996).

II-2-Fonctionnement du sol

Le sol se comporte à la fois comme un lieu de stockage et comme un lieu de transformation (Calvet, 2003). Il participe à la régulation du climat en contrôlant les flux des gaz à effet de serre, mais aussi de la séquestration du carbone (Lavelle *et al.*, 2006). Les sols jouent un rôle important dans la fourniture de services et biens aux êtres humains (Mostajir *et al.*, 2012).

II-2-1-Fonction de transit du sol

Le sol, un lieu de transit, constitue une plaque tournante (Figure 2) dans les cycles biogéochimiques notamment dans les cycles de l'azote, du carbone, du soufre et du phosphore (Calvet, 2003). Ainsi, dans le sol, la matière organique est source d'éléments nutritifs. La matière organique est une importante source d'énergie pour les microorganismes hétérotrophes (Staelens *et al.*, 2011 ; Wani *et al.*, 2012). La décomposition de cette MO produit du CO₂ et d'autres nutriments (Mostajir *et al.*, 2012) tels que l'azote, un élément important pour la croissance des plantes et souvent limitant pour la productivité agricole (Barrios, 2007). La MO augmente d'une certaine manière la qualité des sols ; c'est-à-dire leur capacité à fonctionner (Karlen *et al.*, 1997).

II-2-2- Fonction de séquestration du carbone

La séquestration du carbone dans le sol doit être considérée comme le résultat du bilan net, de tous les flux directs et indirects de gaz à effet de serre à l'interface sol-plante-atmosphère (Bernoux *et al.*, 2004). Ainsi, le stockage de carbone dans le sol est fonction du temps de transit du carbone dans le sol (Couteaux *et al.*, 1995 ; Balesdent, 1996). Ce stockage du carbone dépend en partie de la décomposition de la litière, mais aussi du type et de la profondeur du sol. Une baisse de la teneur en carbone est observée avec la profondeur du sol (Jobbágy et Jackson, 2000

; Arrouays *et al.*, 2003) du fait que le carbone organique provenant principalement de la litière et des mécanismes permettant l'enfouissement ont lieu dans la couche supérieure du sol. Ainsi, la biomasse et la respiration microbienne diminuent avec la profondeur du sol (Scheu et Parkinson, 1995). Les exsudats racinaires contribuent également au stockage du carbone ; un autre facteur expliquant la diminution de la teneur en carbone en fonction de la profondeur est le type de végétation lié à la longueur des racines et de la quantité des exsudats. Le taux de carbone varie considérablement avec la texture du sol ; Jobbágy et Jackson (2000) ont constaté une corrélation négative entre le carbone organique du sol et la texture sableuse et une corrélation positive entre carbone organique du sol et la texture argileuse.

III-Processus de décomposition des litières

La grande quantité de matière organique apportée au sol par les feuilles mortes et autres tissus (Figure 2) constitue une source d'énergie pour les microorganismes stimulant ainsi l'activité biologique (Wani *et al.*, 2012). La litière est progressivement décomposée par les microorganismes et par la faune du sol impliquant deux processus simultanés et fondamentaux : (1) la minéralisation concomitante et l'humification de la lignine, de la cellulose et d'autres composés par une succession de microorganismes et (2) le lessivage de composés solubles dont le carbone (C) et l'azote (N) qui sont progressivement minéralisés ou immobilisés (Couteaux *et al.*, 1995). Arriaga et Maya (2007), montrent que les processus de décomposition et la libération des éléments nutritifs sont contrôlés par des interactions entre le climat, la qualité de la litière et les communautés décomposeurs (bactéries, champignons et macro et microfaune du sol). Ainsi, trois facteurs tels que : les processus biologiques, chimiques et physiques régulent la vitesse de décomposition de la litière. Cette dernière varie en fonction de la composition chimique de la litière (composition chimique initiale et évolution au cours de la décomposition) qui influe sur l'activité biologique (la colonisation et la décomposition par les microorganismes). L'activité biologique modifie la composition chimique. Ainsi, ces deux facteurs ont un impact l'un sur l'autre. Les processus chimiques et biologiques de la décomposition des litières sont sous le contrôle des processus physiques (pH, température, humidité etc..).

III-1-Le flux entrant de litière

La plupart des études sur la décomposition de la litière (Bernhard-Reversat, 1972 ; Fioretto *et al.*, 2000 ; Allison et Vitousek, 2004 ; Torres *et al.*, 2005 ; Lummer *et al.*, 2012) ne

prennent pas en compte le flux entrant (la chute des feuilles, exsudats racinaires) ; alors que la chute de feuilles augmente non seulement la quantité de la litière, mais change aussi constamment la composition chimique de la litière. Ce changement s'accompagne d'un changement de la dynamique des communautés microbiennes et en même temps des vitesses de décomposition. Ainsi, les modèles classiques de la succession de microorganismes, la production d'enzymes ainsi que ceux de la décomposition de la matière organique pourraient être insuffisants pour expliquer l'évolution des MO dans les sols et la décomposition de la litière dans les agroécosystèmes à long terme.

III-2-La composition chimique initiale des litières

La composition chimique initiale des litières joue un rôle important dans les vitesses de minéralisation. Ces litières (résidus de végétaux) ont des compositions complexes allant de composés solubles à des composés récalcitrant en passant par des composés labiles (Sall, 2004). Le taux de minéralisation des composés récalcitrants joue un rôle fondamental dans la séquestration de la MO. Un taux élevé en lignine réduit de façon significative le taux de décomposition de la litière (Allison, 2012) ; ce qui a pour conséquence une augmentation de la teneur en MO dans le sol.

Les compositions chimiques des résidus de végétaux varient en fonction des organes et de l'âge; les résultats des travaux de Diack *et al.* (2000) sur la décomposition de la litière de *Ptilostigma reticulatum* (D.C.) Hochst montrent une décomposition plus rapide des feuilles par rapport aux racines. La biomasse microbienne sous l'influence des litières est plus élevée avec des résidus jeunes qu'avec des résidus matures (Baumann *et al.*, 2011). Cette différence de biomasse microbienne pourrait s'expliquer par une diminution des ressources disponibles dans les résidus sénescents et deviennent ainsi un milieu hostile pour le développement des microorganismes d'où la diminution de la biomasse microbienne.

Les travaux de Arriaga et Maya (2007) montrent que la litière de *Jatropha cuneata* Wiggins & Rollins, ayant des teneurs en fibres et un rapport C/N relativement faible, se décompose plus rapidement que celle de *Cyrtocarpa edulis* (Brandege) Standl. qui possède une teneur en fibres et un ratio C/N plus élevés. Ainsi, les litières ayant des taux élevés en lignine, en carbone, en ratio lignine/ N et C/N se dégradent lentement par contre, des teneurs élevées en azote et en phosphore augmentent les vitesses de décomposition (Barbhuiya *et al.*, 2008 ; Bray *et al.*, 2012).

La composition en fraction soluble, en hémicellulose, en cellulose et en lignine renseigne sur la vitesse de décomposition des résidus de carbone (Mary et Guérif, 1994). Les composés tels que les polyphénols sont généralement considérés comme un groupe de métabolites secondaires des plantes qui inhibent généralement la décomposition (Hättenschwiler *et al.*, 2005).

III-3-Modification chimique de la litière et de la composition microbienne lors de la minéralisation

A l'instar de la composition chimique initiale de la litière, l'évolution de cette composition chimique au cours de la décomposition influence le déroulement de ce processus. La composition chimique des résidus organiques à un stade donné de la décomposition peut être considérée comme une composition chimique initiale selon le système considéré puisque les litières sont déjà dans un processus de transformation. Donc, le taux de décomposition varie au cours du processus ; Diack *et al.* (2000) montrent que la décomposition des résidus est un processus dans lequel le taux de décomposition est proportionnel à la quantité de résidus disponibles pour les microorganismes. Dans les travaux de Hunter *et al.* (2003), les compositions en lignine, en composés phénoliques, en cellulose, en hémicellulose, en azote et en carbone des litières changent au cours de la décomposition.

Au cours du processus de décomposition de la litière, la composition de la communauté microbienne est fortement influencée par les interactions entre les groupes fonctionnels et la composition chimique de la litière (Torres *et al.*, 2005). Une augmentation de la diversité microbienne et une diminution de l'activité des microorganismes pendant la décomposition de la litière ont été trouvées par Dilly *et al.* (2004). Durant les premiers stades du processus de minéralisation des litières, la communauté microbienne pourrait être stimulée par la disponibilité des éléments nutritifs facilement accessibles et accroître premièrement leur activité. L'activation ou l'inhibition d'une fonction des microorganismes pourrait dépendre de l'étape de décomposition, donc de la composition chimique. La diversité bactérienne est plus élevée avec les litières à décomposition lente qu'avec les litières à décomposition rapide (Dilly *et al.*, 2004). Dans le cas d'une litière à décomposition rapide, les microorganismes utiliseraient rapidement les nutriments disponibles de sorte que les autres formes de microorganismes n'aient pas le temps de coloniser cette litière, ainsi, la diversité microbienne est réduite, mais la

biomasse et l'activité augmentent. Cependant, plusieurs formes de microorganismes colonisent les litières à décomposition lente entraînant ainsi une augmentation de la diversité.

III-4-Les conditions environnementales

Les facteurs physico-chimiques comme la température, le pH, la pluviométrie et l'humidité influencent les taux de décomposition de la litière. La vitesse de décomposition varie donc selon les saisons et selon les milieux ; elle est plus élevée en saison chaude et humide qu'en saison sèche et froide (Wall et Moore, 1999 ; Torres *et al.*, 2005 ; Barbhuiya *et al.*, 2008 ; Abugre *et al.*, 2011) ; cela pourrait être attribué à l'augmentation de l'activité microbienne suite à l'augmentation de l'humidité (Schimel *et al.*, 1999 ; Fierer et Schimel, 2002 ; Sardans et Peñuelas, 2005) et de la température. Les activités enzymatiques catalysant une transformation donnée dépendent de la température ; nous savons alors que la vitesse d'une réaction est fonction de la température. La sécheresse réduit l'épaisseur de films d'eau du sol, empêchant ainsi la diffusion d'enzymes extracellulaires et réduisant la disponibilité du substrat carboné organique (Davidson et Janssens, 2006). Ainsi, dans ces conditions arides, les microorganismes sont stressés par le manque d'eau et les enzymes peuvent être produites, mais restent inactives et les substrats éloignés des bactéries ne seront pas dégradés et les microorganismes n'auraient pas d'éléments nutritifs. Dans leurs études sur les taux de décomposition, Austin et Vivanco (2006) et Arriaga et Maya (2007) ont montré que les effets directs du rayonnement solaire sur la décomposition de la litière de feuilles sont plus importants que ceux des processus biologiques. Comme nous l'avons dit plus haut, les composés polyphénoliques réduisent significativement le taux de décomposition, mais au cours des précipitations, ces composés sont lessivés et devrait contribuer à augmenter le taux de décomposition.

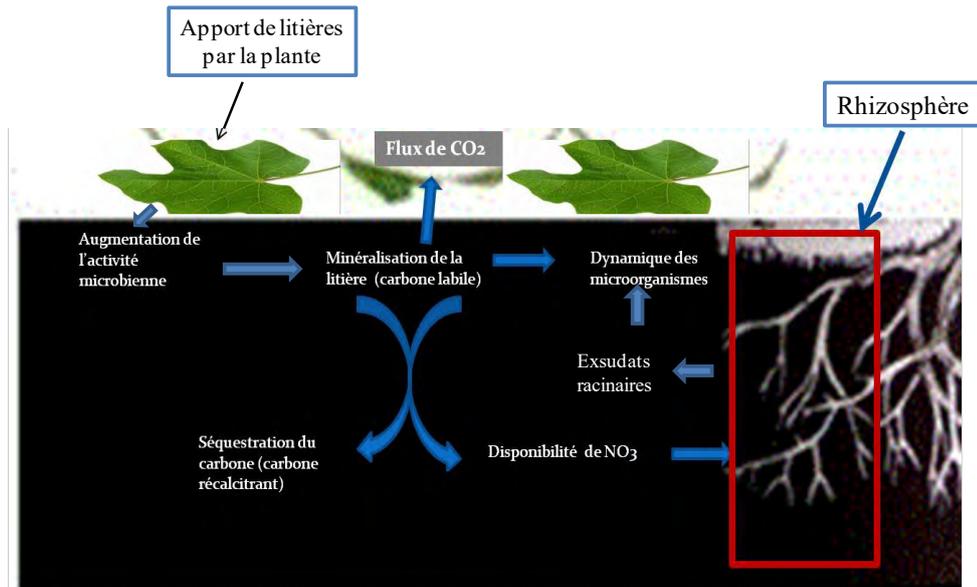


Figure 2 : Le sol : interrelation plante-communauté microbienne-atmosphère

IV- Dynamique, diversité et caractérisation moléculaire des communautés microbiennes des sols

Les processus de l'écosystème qui contribuent à la fourniture de la plupart des services écosystémiques sont sous l'influence des organismes du sol qui sont des membres à part entière de ce dernier (Barrios, 2007). Le fonctionnement biologique des sols regroupe l'ensemble des fonctions assurées par les organismes vivants qui, en interaction avec les composantes physiques et chimiques, permettent la dynamique de la matière organique, le recyclage des nutriments et la circulation de l'eau. Ces fonctions sont assurées par des organismes de tailles variables comprenant les microorganismes (archées, bactéries, eucaryotes unicellulaires hétérotrophes) et les invertébrés (Mostajir *et al.*, 2012). Les microorganismes sont les membres les plus abondants et les plus diversifiés des sols (Mostajir *et al.*, 2012). Ces communautés microbiennes jouent un rôle essentiel dans la qualité des sols ainsi que dans la productivité des plantes (Hill *et al.*, 2000).

IV-1- Caractérisation moléculaire des communautés microbiennes des sols

Il existe plusieurs méthodes classiques de caractérisation des communautés microbiennes telles que les études microbiologiques ; par exemple l'enrichissement qui favorise le développement d'un type d'organisme par rapport à d'autres ou bien l'isolement d'un

individu. Ceci suppose que ce n'est qu'une partie des microorganismes qui est visée par ces méthodes. De plus, la proportion de bactéries cultivables dans les milieux naturels est très faible. Les raisons de cette « non cultivabilité » sont multiples. Il peut s'agir d'un état physiologique viable non cultivable ou de l'inadéquation des milieux de culture conventionnels à la physiologie de la bactérie. Ainsi, lorsque les bactéries sont à l'état de viabilité, mais non cultivable, elles échappent à la détection lorsque l'on applique des tests microbiologiques conventionnels (Lleò *et al.*, 2001). Les approches moléculaires peuvent potentiellement permettre de détecter une plus grande proportion des communautés bactériennes que la microbiologie classique. Les approches moléculaires basées sur l'ADNr 16S comme ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis), DGGE (électrophorèse sur gel à gradient dénaturant), ou TGGE (électrophorèse sur gel à gradient de température), peuvent être utilisées pour augmenter la vitesse de collecte des données, en permettant l'analyse de l'ensemble des produits de l'amplification de l'ADNr, ou la simplification du criblage de clones (McCaig *et al.*, 2001). L'ensemble de ces approches débute par une amplification de l'ADN par PCR ciblant des marqueurs génomiques. La PCR (Mullis *et al.*, 1986) consiste en une amplification enzymatique *in vitro* d'un segment d'ADN à l'aide d'amorces oligonucléotidiques qui sont complémentaires des séquences en 5' et 3' du segment à amplifier. Les méthodes qui utilisent la PCR peuvent conduire à l'identification d'un isolat dans les heures et peuvent être utilisées sur de petites quantités de cellules, y compris celles qui ne sont pas viables ou qui sont non cultivables (Tarr *et al.*, 2007).

La technique de gel électrophorèse en conditions dénaturantes (DGGE) est un outil pratique pour analyser la diversité des communautés microbiennes (Muyzer *et al.*, 1993). Décrit par Fischer et Lerman (1979), la DGGE est une technique d'empreinte moléculaire visant à séparer des molécules d'ADN de même longueur, mais qui se différencient par leurs séquences nucléotidiques. La séparation est effectuée sur un gel d'acrylamide contenant un gradient supposé linéaire et croissant de substances dénaturantes. Les variations de séquences entre les différents amplifiats vont influencer leur dénaturation et par conséquent leur distance de migration électrophorétique. Ainsi, les séquences d'ADN ayant une plus forte concentration en bases G et C vont migrer plus loin dans le gel avant d'atteindre leur domaine de dénaturation, c'est-à-dire la concentration en dénaturant nécessaire pour rompre les liaisons hydrogènes qui unissent les deux brins. La dissociation des deux brins d'ADN n'est pas totale du fait de l'addition d'une courte région d'ADN riche en GC, appelée « queue GC » ou « clamp GC ».

La DGGE permet ainsi d'obtenir et de comparer les profils des communautés microbiennes présentes dans un environnement.

Cependant, ces techniques ne permettent pas l'identification des communautés microbiennes et de mettre en évidence leurs fonctions et leur organisation taxonomique. Par contre, les techniques de séquençage de l'ADN constituent des méthodes dont le but est de déterminer la succession linéaire des bases A, C, G et T prenant part à la structure de l'ADN. La lecture de cette séquence permet d'étudier l'information biologique contenue par celle-ci (Lamoril *et al.*, 2008). Les nouvelles générations de séquençage ou NGS (Next Generation Sequencing) telles que le séquençage des amplicons de l'ARN ribosomal 16S ou la métagénomique permettent de déterminer rapidement la biodiversité et l'abondance de plusieurs espèces et l'organisation taxonomique simultanément (Rincon-Florez *et al.*, 2013).

Les analyses métagénomiques et protéomiques sont des approches globales qui permettent d'identifier les membres d'une communauté microbienne et qui donnent un aperçu du potentiel physiologique de la communauté (Knief *et al.*, 2012). La métagénomique constitue ainsi un outil puissant pour étudier les capacités fonctionnelles des communautés microbiennes individuelles (Fierer *et al.*, 2012). La diversité taxonomique au niveau génétique des microorganismes est communément étudiée par la détermination des gènes codant l'ARN ribosomal. Les gènes codant pour de l'ARN ribosomal 16S et 18S sont utilisés pour les études phylogénétiques respectivement des bactéries et des champignons (Sharma *et al.*, 2011). Les nouvelles technologies telles que le pyroséquençage 454 Roche, Illumina Miseq et PGM Ion Torrent réduisent considérablement les coûts de séquençage, à un niveau tel que les analyses métagénomiques deviennent une alternative viable pour une évaluation plus ciblée de la phylogénie et de la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes (Wommack *et al.*, 2008). Les NGS ont révolutionné les recherches microbiologiques environnementales et ont un grand potentiel pour faire la lumière sur des questions pertinentes en agriculture et en biologie des sols (Rincon-Florez *et al.*, 2013).

IV-2-Diversité microbienne des sols

Les microorganismes sont des composantes de « l'appareil biologique de la terre » et permettent une mesure intégrative de la qualité des sols, un aspect qui ne peut être toujours obtenue avec des analyses physiques et chimiques de même qu'avec l'analyse des macroorganismes (Sharma *et al.*, 2011). Plusieurs études ont montré que la composition et la

structure des communautés microbiennes des sols dépendent en grande partie de la disponibilité des nutriments tels que le carbone, l'azote et le phosphore (Lauber *et al.*, 2008 ; Li *et al.*, 2014), du pH et du rapport C/N (Högberg *et al.*, 2007 ; Lauber *et al.*, 2008), donc de la composition chimique intrinsèque des sols (Girvan *et al.*, 2003). La composition des communautés microbiennes des sols dépend aussi de la structure et de la texture du sol (Girvan *et al.*, 2003 ; Lauber *et al.*, 2008). Les teneurs élevées en lignine (DeAngelis *et al.*, 2011), de même que la fertilisation phosphatée (Tan *et al.*, 2012) entraînent une amélioration de la diversité des communautés microbiennes du sol.

Les communautés bactériennes jouent un rôle important dans la santé des plantes et la fertilité des sols (Chaudhary *et al.*, 2012). C'est le cas par exemple des bactéries PGPR (Plants Growth Promoting Rhizobactéria), qui stimulent directement la croissance des plantes en augmentant le prélèvement des éléments nutritifs du sol, en induisant et produisant des régulateurs de croissance végétale et en activant les mécanismes de résistance induits chez les végétaux. Les champignons possèdent une grande capacité de production d'une large gamme d'enzymes extracellulaires qui décomposent la matière organique (Mostajir *et al.*, 2012).

En fonction du système considéré, on distingue les diversités alpha, bêta et gamma. La diversité alpha représente la diversité des organismes dans un échantillon ou dans un environnement donné (Navas-Molina *et al.*, 2013). La diversité bêta représente la différence de diversité entre échantillons ou entre environnements et la diversité à grande échelle représentée par la résultante des diversités alpha et bêta est définie comme étant la diversité gamma (Whittaker, 1960).

IV-3-Dynamique des communautés microbiennes dans les sols

L'évolution des communautés microbiennes dans les sols est sous l'influence des conditions abiotiques, mais aussi de la composition de ces communautés microbiennes elles-mêmes. L'activité et la structure de ces populations microbiennes sont influencées par les changements physico-chimiques des sols (Spedding *et al.*, 2004). Des changements pouvant être dus à une dynamique de la qualité des résidus provenant des plantes cultivées sur ces sols. La modification de la composition chimique de ces résidus au cours du processus de décomposition entraîne une modification de la structure des communautés bactériennes au cours du temps (Bray *et al.*, 2012). Les microorganismes s'adaptent ainsi en fonction de la qualité des sols ; certains s'adaptent et se développent rapidement dans les environnements

riches en nutriments facilement accessibles. Ces types de microorganismes sont dits copiotrophes (Koch, 2001) ou r-stratégistes. Les communautés microbiennes r-stratégistes se développent rapidement dans des milieux riches en nutriments car ce sont des organismes qui allouent la plus grande part de leur énergie à la multiplication. A l'inverse, les K stratèges ou oligotrophes sont des organismes qui s'adaptent mieux dans des milieux où la disponibilité des nutriments est réduite (Koch, 2001), allouant une grande quantité d'énergie à la production d'enzymes capables de dégrader les macromolécules. Ces communautés microbiennes à stratégie K permettent une transformation de l'azote organique en une forme assimilable par les plantes, accomplissant ainsi un rôle d'une importance capitale dans la fertilité des sols (Fontaine et al., 2003). Le carbone contenu dans les résidus nouvellement apportés au sol stimule la croissance aussi bien des organismes copiotrophes que des organismes oligotrophes (Hu et al., 1999). Cependant, pendant les premières semaines des processus de minéralisation des litières dans les sols, les communautés microbiennes dites r stratégistes dégradent les métabolites facilement disponibles (Aneja *et al.*, 2006) et se développent rapidement. Ensuite, les K stratégistes spécialisés dans la décomposition des composés plus ou moins récalcitrant colonisent les litières dans les dernières étapes de décomposition (DeAngelis *et al.*, 2013).

L'augmentation des vitesses de décomposition des résidus organiques correspondant à l'utilisation des composés facilement minéralisables entraîne une augmentation de l'abondance des membres du phylum des Protéobactéria qui adoptent ainsi une stratégie r (Fierer *et al.*, 2007). A l'inverse, une diminution des vitesses de décomposition est associée à l'augmentation des abondances relatives des Acidobactéria (Fierer *et al.*, 2007) et à long terme avec une faible disponibilité des composés facilement dégradables (DeAngelis *et al.*, 2013), les Firmicutes montrent des abondances relatives élevées.

Chapitre II : Influence des litières foliaires de *Jatropha curcas* sur la minéralisation du carbone et de l'azote et sur la dynamique des communautés bactériennes des sols en conditions contrôlées

Les résultats de ce chapitre ont été publiés dans la revue **Journal of Soil Science and Environmental Management (JSSEM)** :

Titre : *The effect of Jatropha curcas L. leaf litter decomposition on soil carbon and nitrogen status and bacterial community structure (Senegal)*

Auteurs : *DIEYE Tidiane, ASSIGBETSE Komi, DIEDHIOU Ibrahima, SEMBENE Mbacké, DIENG Amadou Lamine, GUEYE Mariama et MASSE Dominique*

Accepté le 26 Novembre 2015, publié en Mars 2016

Chapitre II : Influence des litières foliaires de *Jatropha curcas* L. sur la minéralisation du carbone et de l'azote et sur la dynamique des communautés bactériennes des sols en conditions contrôlées

I-Introduction

La lutte contre la désertification, l'amélioration de la productivité agricole et l'atténuation du réchauffement climatique par la séquestration du carbone sont les principaux objectifs des plans d'action et politiques nationales, environnementales et agricoles sénégalais (Tieszen *et al.*, 2004). De plus, le Sénégal, pays non encore producteur de pétrole, avait adopté la politique des énergies renouvelables. C'est ainsi que depuis 2007, *Jatropha curcas* L. a été massivement introduit dans ce pays plus particulièrement dans les zones rurales. Dans cette région soudano-sahélienne, les sols ont une fertilité réduite (Bationo et Buerkert, 2001). La culture de cette plante participerait à l'amélioration de la qualité des sols par une augmentation de la matière organique ; pouvant contribuer ainsi à une amélioration globale de la fertilité des sols et à un stockage du carbone. Cependant, les processus de décomposition des litières de *Jatropha* et leur rôle dans les sols ne sont pas clairement établis. Des différences intraspécifiques en compositions chimiques de résidus de plantes ont été observées par Lecerf et Chauvet (2008) ; à notre connaissance, peu d'études ont été effectuées sur la variation intraspécifique de la composition biochimique des résidus de *Jatropha*. Un facteur important de la qualité des résidus est la résorption des nutriments avant l'abscission des feuilles qui pourrait différer selon les provenances de *Jatropha*. Ainsi, les mécanismes de minéralisation de feuilles fraîches et sénescents de plantes de *Jatropha* ayant des provenances différentes et leur capacité à restituer les nutriments aux sols et ainsi participer aux fonctions des agroécosystèmes et leurs impacts sur les communautés microbiennes de ces sols doivent être élucidés d'autant plus que la diversité et la structure des communautés microbiennes constituent des indicateurs de la qualité des sols (Sharma *et al.*, 2011).

L'objectif de cette étude est, dans des conditions de laboratoire, d'examiner l'impact de feuilles fraîches (vertes) et sénescents (jaunes) de différentes provenances de *Jatropha* sur les cycles du carbone, de l'azote ainsi que sur la dynamique des communautés bactériennes des sols.

II-Matériel et Méthodes

II -1-Echantillonnage

II -1-1-Le sol

Le sol utilisé dans cette expérimentation a été collecté à Goudiry en février 2010 ; cette localité est située au Sud-Est du Sénégal (14°11'15.27"N ; 12°42'44.79"O). Le sol provenant de l'horizon 0-20 cm a été séché au laboratoire à l'air libre puis tamisé à 2 mm avant toute expérimentation et analyse. Il s'agit d'un sol de type ferrugineux tropical lessivé (Khouma, 2002) contenant 6 à 9 % d'argile, 9 mg/g de carbone total, 0,8 mg/g d'azote total et 7,9 mg/g de phosphore. Le pH du sol a été estimé à 6,17.

II -1-2-Les feuilles de Jatropha

Les feuilles de *Jatropha* utilisées dans cette étude proviennent de la plantation de *Jatropha* de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agriculture (ENSA) de Thiès (14°42'52''N ; 16°28'64"O). Il s'agit d'une plantation expérimentale en quatre blocs complètement randomisés avec des distances de plantation de deux mètres et n'ayant reçu aucune fertilisation. Les feuilles ont été collectées sur les plantes et sont de deux types : des feuilles sénescentes jaunes et des feuilles jeunes directement récoltées sur les arbres et ayant toujours la couleur verte. Ces feuilles proviennent de quatre provenances dont deux originaires du Sénégal : Banfadjiré (Ban) et Madiop Boye (MB) ; un provenant de Mozambique (MOZ) et le quatrième est originaire de Tanzanie (TZ) (Ndir *et al.*, 2013; Diédhiou *et al.*, 2016). Pour chaque type de feuille de chaque provenance, nous avons prélevé un échantillon composite composé de quatre sous-échantillons provenant de quatre plantes différentes. Les échantillons de feuilles ont été par la suite séchés à température ambiante au laboratoire pendant trois semaines puis broyés et tamisés à 2 mm.

II -2-Analyse physico-chimique

II -2-1-Caractéristiques physico-chimiques du sol

La détermination des propriétés physico-chimiques des sols a été effectuée au Laboratoire des Moyens Analytiques (LAMA ; US 122 de l'IRD Dakar, certifié ISO 9001).

Les dosages du carbone et de l'azote total ont été effectués par combustion sèche à l'aide d'un analyseur élémentaire CHN EA1112 Thermo finnigan Series à une température de

1800°C. Les composés obtenus après combustion passent successivement dans le catalyseur d'oxydation (900°C) et dans la colonne de réduction (750°C). Le carbone est alors transformé en gaz carbonique et l'azote en monoxyde d'azote. Ils sont ensuite séparés dans une colonne de chromatographie en phase gazeuse utilisant l'hélium et équipé de deux détecteurs. Les quantités de carbone et d'azote sont obtenues grâce au logiciel EAGER 300 for EA 1112.

La granulométrie, analyse de la répartition des particules minérales en fonction de leur taille, a été déterminée par tamisage, sédimentation et prélèvement à la pipette de Robinson (Aubert *et al.*, 1954). Dix grammes de sol tamisés à 2 mm ont été soumis à une attaque par l'eau oxygénée (H₂O₂ ; 50 ml diluée à 30%) afin d'éliminer la matière organique. Les particules minérales ont ensuite été dispersées par ajout de 25 ml d'une solution diluée de pyrophosphate de sodium (65 g/l). Puis, le mélange a été agité pendant 4 heures puis transvasé dans une allonge, ajustée à un litre et bouchée. La solution obtenue a été tamisée sous flux d'eau à 200 et à 50 µm pour obtenir les fractions les plus grossières (sables et limons grossiers) et les particules les plus fines (limons fins et argiles) ont été prélevées après sédimentation dans une allonge. Enfin, les fractions obtenues ont été pesées après séchage à l'étuve et la proportion relative de chaque fraction granulométrique a été calculée afin de déterminer la texture des échantillons de sol.

Le pHeau du sol a été mesuré selon le ratio 1:2,5 (sol : solution) à l'aide du pH-mètre (Mettler Toledo, 320).

La teneur en phosphore total a été déterminée, sur une chaîne d'analyse colorimétrique par flux continu (Technicon, AutoAnalyseur III) après ajout d'un mélange d'acide nitrique et d'acide chlorhydrique concentrés, selon la méthode de Murphy et Riley (1962).

II -2-2- Caractérisation biochimique des feuilles

Les teneurs des **composés solubles, d'hémicellulose, de cellulose et de lignine** ont été déterminées par la méthode de Van Soest *et al.* (1991). Les produits utilisés sont détaillés dans l'ANNEXE 2 ; brièvement, tous les échantillons de feuille ont été préalablement broyés et tamisés à 2 mm. Pour chaque échantillon, trois pesées de 1 g ont été effectuées dans des creusets. Les creusets ont été par la suite placés sur l'extracteur (photo 3) et les échantillons traités à chaud avec de l'eau, puis avec une solution au détergent neutre NDF (Neutral Detergent Fiber) pour l'obtention de la teneur en composé soluble et des composés organiques insolubles

(hemicellulose, cellulose et lignine). Les résidus insolubles ont été filtrés et lavés. Un des trois résidus a été mis de côté pour des opérations ultérieures de séchage et de calcination. Les deux autres résidus ont été hydrolysés à chaud par une solution de détergent acide (ADF : Acid Detergent Fiber), filtrés et lavés pour l'obtention des composés organiques insolubles dans le détergent (Cellulose et Lignine) après solubilisation de l'hemicellulose. Après cette étape, l'un des deux résidus a également été mis de côté pour des opérations ultérieures de séchage et de calcination. Le résidu restant a été traité à froid par une solution d'acide sulfurique à 72 %, filtré et lavé pour la solubilisation de la cellulose et l'obtention de la lignine (ADL : Acid Detergent Lignine). Tous les résidus (NDF, ADF, ADL) ont été séchés, pesés, calcinés, puis pesés à nouveau.



Photo 3 : Extracteur de fibres (Crédit photo : T.Dièye 2013)

Les teneurs en carbone total et en azote total ont été déterminées par combustion sèche à l'aide d'un analyseur élémentaire LECO FP 428 CHN (LECO corporation, St. Joseph, Mich.) et la **teneur en phosphore total** a été déterminée par colorimétrie (Murphy et Riley, 1962).

II-3- Incubation

Les feuilles sénescentes et jeunes de chaque provenance de Jatropha ont été utilisées pour l'incubation au laboratoire. Dans cette expérimentation nous avons utilisé deux types de

pots de diamètre connu (calcul de la surface de sol). Dans le premier jeu de pots servant à l'étude de la minéralisation du carbone, 20 g de sol ont été introduits dans chaque pot. Dans le second jeu de pots, nous avons introduit 40 g de sol pour l'étude de la minéralisation de l'azote et des communautés microbiennes. Les sols ont été pré-incubés à 28°C pendant une semaine pour réactiver les microorganismes. L'humidité du sol a été ajustée à 60 % de la capacité de rétention au champ (CRC) puis à 80 % pour l'incubation. Avant l'incubation des sols, nous avons effectué un mulching des feuilles à la surface des sols contenus dans les pots. Les mêmes traitements ont été appliqués dans les deux types de pots avec trois répétitions. La quantité de litière foliaire apportée est de 508 kg ha⁻¹ (Abugre *et al.*, 2011). Cette quantité de litières apportée au sol correspond à la quantité maximale de litière de Jatropha récoltée en saison sèche dans une plantation de 1m x 1m de distance de plantation dans une région où la pluviométrie et la température moyenne sont respectivement de 1300 mm et 26°C. Les pots ayant servi à l'étude de la minéralisation du carbone et un sol témoin sans apport de feuille (trois répétitions) ont été introduits dans des flacons à plasma scellés. Les échantillons du deuxième jeu de pots (avec des témoins sans apport de feuille) ont été introduits dans des bocaux fermés hermétiquement contenant des flacons de NaOH (15 ml à 1M) pour capturer le CO₂.

L'ensemble des échantillons ont été incubés à 28°C pendant 120 jours. Pour l'étude de la minéralisation du carbone, les mesures ont été effectuées régulièrement alors que pour la minéralisation de l'azote et l'étude des communautés microbiennes nous avons choisi six sorties d'incubation : 0, 3, 28, 56, 90, 120 jours (162 échantillons). Pour chaque sortie d'incubation un triplet d'échantillon témoin (sans apport de feuille) a été utilisé. A chaque sortie d'incubation, les échantillons ont été bien mélangés puis **les teneurs en ions ammoniums (NH₄⁺) et nitrates (NO₃⁻)** ont été dosées par colorimétrie (Technicon, AutoAnalyseur III) au LAMA après extraction dans une solution de KCl 1M (Bremner, 1965). Les teneurs en carbone et en azote total de chaque échantillon de chaque sortie d'incubation ont été également dosées au LAMA. Pour chaque échantillon, une aliquote de sol a été gardée à -20°C en attendant l'extraction d'ADN.

II -4-Détermination de la minéralisation du carbone

Pour l'étude de la minéralisation du carbone nous avons mesuré le flux de CO₂ de l'air ambiant des flacons à plasma (incubation de sol+feuilles) par injection directe dans un chromatographe à phase gazeuse de type SRA Analytical Instruments (MTI P200 Microsensor

Technology Inc., Fremont, CA, USA) équipé d'un détecteur à thermo-conductibilité (TCD) et d'une colonne Poraplot (photo 4). L'hélium est utilisé comme gaz vecteur. Le chromatographe est couplé à un ordinateur pourvu du logiciel Windows-based EZChrom 200, MTI.



Photo 4 : Chromatographie à phase gazeuse (Crédit photo : T.Dièye 2013)

Le dégagement de CO₂ net provenant des feuilles a été obtenu relativement par rapport au sol témoin et les données en CO₂ ont été transformées en carbone net. Les pertes de carbone des feuilles au cours du temps ont ensuite été calculées par rapport aux teneurs initiales en carbone de ces mêmes feuilles. Les données d'évolution du carbone en fonction du temps ont été bien ajustées au modèle de décomposition double exponentiel (équation 1) de Wider et Lang (1982) utilisé par plusieurs auteurs (Beyaert et Paul Voroney, 2011 ; Staelens *et al.*, 2011 ; Patrício *et al.*, 2012).

$$\text{Equation 1 : } C_t = C_1e^{-k_1t} + C_2e^{-k_2t}$$

Où C_t représente le pourcentage de carbone restant au temps t , C_1 le pourcentage initial de carbone labile, k_1 le coefficient de décomposition spécifique du carbone labile, C_2 le pourcentage initial de carbone récalcitrant et k_2 le coefficient de décomposition spécifique du carbone récalcitrant.

II -5-La minéralisation de l'azote

Les teneurs en azote minéral total net, en ions ammoniums et nitrates au cours du temps ont été déterminées relativement par rapport au sol témoin et à l'azote minéral contenu initialement dans les échantillons (Equations 2, 3 et 4).

$$\text{Equation 2 : } N_{\text{net}(t)} = N_t - N_{0\text{net}}$$

$$\text{Equation 3 : } N_{0\text{net}} = N(\text{litière+sol})_0 - N(\text{sol nu})_0$$

$$\text{Equation 4 : } N_t = N(\text{litière+sol})_t - N(\text{sol nu})_t$$

Où $N_{\text{net}(t)}$ est l'azote minéralisé net, N_t = azote minéral obtenu à la sortie d'incubation et $N_{0\text{net}}$ = azote minéral initial.

II -6-Extraction de l'ADN génomique et purification

L'ADN contenu dans chaque échantillon de sol a été extrait. Cette extraction a été réalisée à partir de 0,25 g de sol avec le kit « Fast spin Spin™ kit for soil » (MP biomedical, Santa Ana, CA, États-Unis). Brièvement, les échantillons de sol ont été introduits dans des tubes (Lysing Matrix E tube) puis les tampons Sodium Phosphate Buffer et MT Buffer ont été ajoutés dans les tubes. Les échantillons de sol ont été ensuite broyés avec le broyeur MP FastPrep®-24 (deux fois pendant 30 s à une vitesse de 6 m.s⁻¹). Pour récupérer le surnageant, les tubes ont été centrifugés pendant 5 min à 14.000 g à une température de 4°C. Le surnageant a ensuite été placé dans des tubes eppendorfs de 1,5 ml et ajouté d'une solution de PPS (Protein Precipitation Solution) permettant une précipitation des protéines. Le surnageant a été récupéré après une nouvelle centrifugation. Puis, l'ADN a été fixé à une résine (DNA Binding matrix) puis purifié par ajout de 500 µL de guanidine thiocyanate 5,5 M. Ensuite l'ADN a été lavé (ré-suspension dans du SEWS + éthanol 100%) et élué dans 100 µL d'eau ultra pure. L'ADN a été récupéré après une dernière centrifugation. Le rendement de l'extraction (qualité et quantité) a été déterminé par la suite au Nanodrop (ND- 1000 UV-Vis Spectrophotomètre, Labtech).

II -7-La réaction de polymérisation en chaîne ou PCR

Pour l'étude des communautés bactériennes nous avons choisi la région V3 du gène codant l'ARN ribosomal 16S. Ce gène a la particularité d'être présent chez toutes les bactéries, conservé et hyper-variant. L'amplification par PCR de la région V3 (16S) a été effectuée en utilisant le couple d'amorces : 338f (5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3') muni d'un GC « clamp » (5'-CGCCCGCCGCGCGCGGGCGGGGCGGGGGCACGGGGGG-3') et 518r (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3') décrites par Muyzer *et al.* (1993). Ces amorces produisent des amplicons de 220 paires de bases. Le mélange réactionnel de 25 µl était composé de 5 ng

d'ADN, 1 μM de chaque amorce et de la Taq polymérase Ready- to-go (PuRe taqTM Ready-to-goTM). La Taq se présente sous forme de bille lyophilisée composée de Taq DNA polymérase 2,5U ; dNTP 200 μM ; Tris-HCl 10 mM à pH 9 ; KCl 50 mM ; MgCl₂ 1,5 mM et de BSA. Les amplifications ont été effectuées à l'aide du thermocycleur Gene AmpR PCR system 9700 (Applied, biosystem, Courboeuf, France) avec les cycles thermiques suivants : dénaturation 94° C pendant 2 min suivie de 20 Cycles : 94°C pendant 30 s, 65°C pendant 30 s avec une diminution de la température d'hybridation de 0,5°C à chaque cycle (PCR 'Touchdown') suivie d'une élongation à 72°C pendant 1 min et de 10 cycles : 94°C pendant 30 s, 55°C pendant 30 s, 72°C pendant 1 min et d'une élongation finale à 72°C pendant 15 min.

II-8-Etude de la structure génétique des communautés bactériennes par PCR-DGGE

Les produits issus de l'amplification par PCR ont été séparés en utilisant une électrophorèse en gradient de dénaturation (DGGE). Ces produits PCR ont été déposés sur un gel à 8% d'acrylamide-Bis acrylamide (ratio 37,5:1) constitué d'un gradient dénaturant compris entre 45% et 70% et des solutions d'APS (Persulfate d'ammonium) à 10% (w:v) et de TEMED (Tetraméthyl éthylène Diamine) qui catalysent la réaction de polymérisation du gel acrylamide. Une solution contenant 100% de substances dénaturantes est composée d'une solution d'urée 7M et de formamide déionisée à 40% (v:v).

La migration a été effectuée dans un tampon TAE 1X (40 mM Tris, 20 mM acétate de sodium, 1 mM EDTA) à une température constante de 60°C à l'aide d'un système « Ingeny phorU » pendant 18 heures à 100V (photo 5). A la fin de la migration, le gel a été coloré au Bromure d'éthidium (BET) à 1 mg.l⁻¹ pendant 30 minutes sous une légère agitation puis rincé à l'eau déminéralisée pendant 10 min (sous une légère agitation). Les profils DGGE ont été révélés grâce à une chambre à UV reliée à un ordinateur muni du logiciel Bio-Capt (Vilbert Lourmat, France).

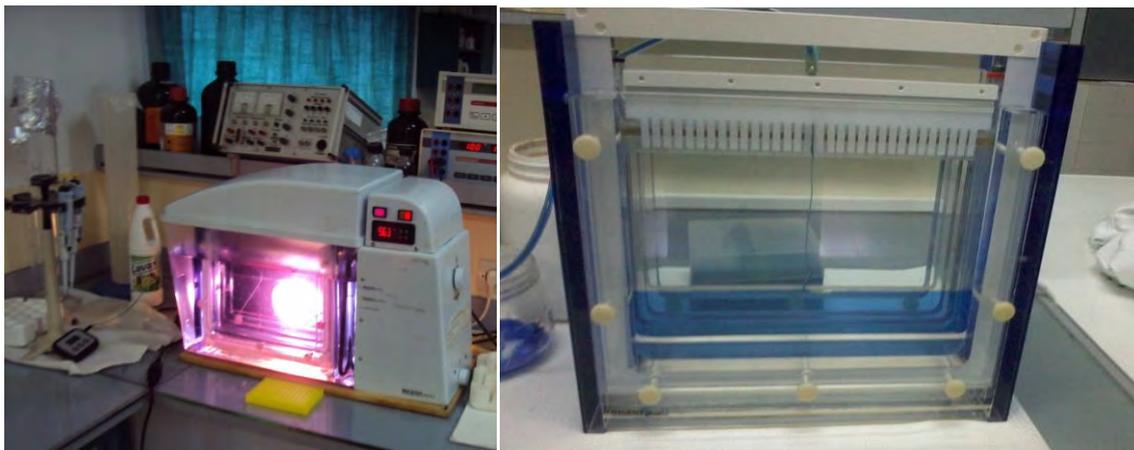


Photo 5 : Cuve électrophorèse « Ingeny phorU » à gauche et coulage du gel DGGE à droite (Crédit photo : T.Dièye 2013)

La structure des communautés bactériennes a été mise en évidence à travers l'analyse des gels DGGE à l'aide du logiciel d'analyse de gel Phoretix 1D v10. 2009. Ce logiciel permet d'identifier les bandes et de comparer les différents profils DGGE en termes de présence/absence des bandes. Les degrés de similitude entre les profils des échantillons ont été calculés selon le coefficient de Dice. La méthode de l'algorithme UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Algorithm) a par la suite été utilisée pour construire le dendrogramme de similarité. La diversité structurale des communautés bactériennes a été estimée en calculant l'indice de diversité de Shannon H pour chaque profil DGGE. L'indice de Shannon est un indice de richesse basé sur les théories de l'information ; il est calculé par l'équation suivante:

$$\text{Equation 5 : } H = -\sum p_i \cdot \log p_i \text{ avec } p_i = n_i/N$$

Où p_i représente l'abondance relative de l'espèce ; n_i = nombre d'individus d'une espèce dans l'échantillon basé ici sur l'intensité des bandes ; N = nombre total d'individus de toutes les espèces dans l'échantillon (intensité de toutes les bandes).

L'indice de Shannon décrit la diversité en prenant en compte à la fois le nombre d'espèces, mais également la distribution (importance) des individus au sein de chaque espèce. Plus cet indice est élevé, plus la diversité est grande.

II -9- Analyses statistiques

Une ANOVA à deux facteurs (origine et degré de maturité des feuilles) a été réalisée pour comparer les teneurs en azote, en carbone et des ratios C/N des feuilles de *Jatropha*. Le

test de Fisher à 95 % a ensuite été réalisé pour classer les moyennes. Toutes les corrélations effectuées dans cette étude ont été réalisées par le test de corrélation de Pearson. Les analyses statistiques ont été effectuées grâce au logiciel XLStat-Pro (2011.2.04 AddinSoft).

Une Analyse en Composante Principale (ACP) a également été réalisée avec le logiciel XLStat-Pro (2011.2.04 AddinSoft). Les variables analysées sont : teneur en azote minéral, le ratio C/N, le cumul de CO₂ et la diversité de Shannon des différents traitements au cours du temps.

III-Résultats

III-1- Composition biochimique des feuilles

La composition biochimique des litières est reportée dans le tableau 1. L'origine, le degré de maturité des feuilles et l'interaction origine* degré de maturité des feuilles ont eu un effet significatif sur la teneur en azote et sur le ratio C/N (Tableau 2 ; $p < 0,0001$). Quelle que soit l'origine des plantes, les résidus verts ont eu des teneurs en azote plus élevées que les résidus jaunes ($p < 0,0001$) ; à l'inverse, le rapport C/N a été plus élevé avec les résidus jaunes qu'avec les résidus verts ($p < 0,0001$). Les résidus jaunes des provenances Banfadjiré et Tanzanie ont eu des teneurs similaires en azote, cependant, les résidus verts de la provenance Banfadjiré présentaient des teneurs en azote largement supérieures aux résidus verts de la provenance Tanzanie ($p < 0,0001$). Les feuilles vertes des provenances Mozambique et Banfadjiré ont montré les teneurs en azote les plus élevées. Cependant, les teneurs les plus faibles en azote ont été observées avec les résidus jaunes de la provenance Mozambique ($p < 0,0001$). Les ratios C/N des feuilles vertes, qui variaient entre 14 et 15 ont été significativement inférieurs ($p < 0,0001$) aux ratios C/N des feuilles jaunes qui variaient entre 26 et 32. Les ratios C/N les plus élevés ont été observés avec les résidus jaunes de la provenance Mozambique (32,78) suivis des résidus jaunes de la provenance Madiop Boye (30,75). Le degré de maturité des feuilles et l'interaction origine*degré de maturité des feuilles n'ont pas eu d'effet significatif sur les teneurs en carbone, cependant, l'origine des plantes a impacté les teneurs en carbone (Tableau 2 ; $p < 0,05$). Les feuilles de *Jatropha* des provenances Banfadjiré et Tanzanie ont eu des teneurs en carbone plus élevées que celles des provenances Madiop Boye et Mozambique ($p < 0,05$). L'analyse des teneurs en fibres des feuilles a révélé que les teneurs en composés solubles et en hémicellulose ont été plus élevées avec les résidus frais alors que les teneurs en lignine ont été plus élevées avec les feuilles sénescents à l'exception des résidus

de la provenance Mozambique. La même tendance a été observée sur les teneurs en cellulose qui ont été plus élevées dans les feuilles jaunes (sénescences), cependant, la provenance Madiop Boye a montré des teneurs en cellulose similaires avec les deux types de résidus. Parmi les résidus verts de *Jatropha*, la provenance Mozambique semblait contenir des teneurs en lignine plus élevées et des teneurs faibles en cellulose et en hémicellulose comparées aux autres provenances. Nos résultats ont montré aussi des teneurs élevées en lignine et en cellulose et des teneurs faibles en composés solubles et en hémicellulose dans les feuilles sénescences de *Jatropha* de la provenance Mozambique par rapport aux provenances Tanzanie et locales (Banfadjiré et Madiop Boye).

Tableau 1 : Caractéristiques biochimiques des feuilles de *Jatropha*

provenances	Degré de maturité des feuilles	Traitement	N total (mg g ⁻¹)	C total (mg g ⁻¹)	C/N	% de matière organique			
						Composés solubles	HEM	CEL	LIG
Banfadjiré (Sénégal)	Jeunes (vertes)	Ban1	30,9 (0,9)	446,6 (6,8)	14,44 (0,24)	52,73	12,12	21,21	13,94
	Sénescences (Jaunes)	Ban2	16,9 (0,2)	453,4 (5)	26,75 (0,51)	43,45	4,65	23,99	27,91
MadiopBoye (Sénégal)	Jeunes (vertes)	MB1	28,5 (0,9)	432,7 (3,7)	15,19 (0,54)	53,94	12,56	20,07	13,42
	Sénescences (Jaunes)	MB2	14,6 (0,5)	448,1 (9,4)	30,75 (0,48)	44,90	8,16	20,15	26,79
Mozambique	Jeunes (vertes)	MOZ1	31,1 (0,2)	442,2 (4,6)	14,24 (0,11)	50,25	6,86	13,48	29,41
	Sénescences (Jaunes)	MOZ2	13,3 (0,2)	436 (1,5)	32,78 (0,63)	33,33	4,39	30,41	31,87
Tanzanie	Jeunes (vertes)	TZ1	29,5 (0,7)	448,7 (10,1)	15,19 (0,07)	55,60	12,42	17,96	14,02
	Sénescences (Jaunes)	TZ2	17 (0,5)	451,6 (6,3)	26,52 (0,54)	44,74	8,44	21,15	25,67

Les valeurs de C, N et C/N sont des moyennes de trois répétitions et l'écart-type est mis entre parenthèse ; HEM=hémicellulose ; CEL=cellulose ; LIG=lignine

Tableau 2: ANOVA à deux facteurs (origine et degré de maturité des feuilles) sur les teneurs en C et N et le ratio C/N

Sources de variation	Paramètres statistiques	N total (mg g ⁻¹)	C total (mg g ⁻¹)	C/N
	R²	0,995	0,624	0,998
Modèle	F	478,920	3,794	965,156
	Pr > F	< 0,0001	0,013	< 0,0001
Origine	F	17,883	4,983	65,693
	Pr > F	< 0,0001	0,013	< 0,0001
Degré de maturité des feuilles	F	3240,771	3,144	6314,537
	Pr > F	< 0,0001	0,095	< 0,0001
Interaction origine*	F	19,341	2,822	81,492
Degré de maturité des feuilles	Pr > F	< 0,0001	0,072	< 0,0001

III-2-Flux de CO₂ et perte de carbone des litières pendant la décomposition

Le flux de CO₂, exprimé en mg.g⁻¹(sol).jour⁻¹, est représenté par la figure 3. Juste après l'incorporation des feuilles (étapes précoces de décomposition), nous avons noté un flux de CO₂ élevé dans tous les traitements par rapport au témoin (p<0,0001). Les résidus verts ont entraîné des flux de CO₂ plus élevés que les résidus jaunes de toutes les provenances à trois jours après leur incorporation au sol. Au-delà de trois jours d'incubation ; il n'y avait plus de différence entre les flux de CO₂ dans les traitements avec incorporation de feuilles. Le flux de CO₂ à trois jours d'incubation a été corrélé positivement avec les teneurs initiales en azote des litières (p<0,0001 ; R²=0,946) et corrélé négativement avec le rapport C/N (p=0,0003 ; R²=0,90). A la fin de l'incubation (120 jours), les flux de CO₂ n'étaient plus significativement différents entre les sols amendés avec des feuilles et les sols témoins (p<0,0001).

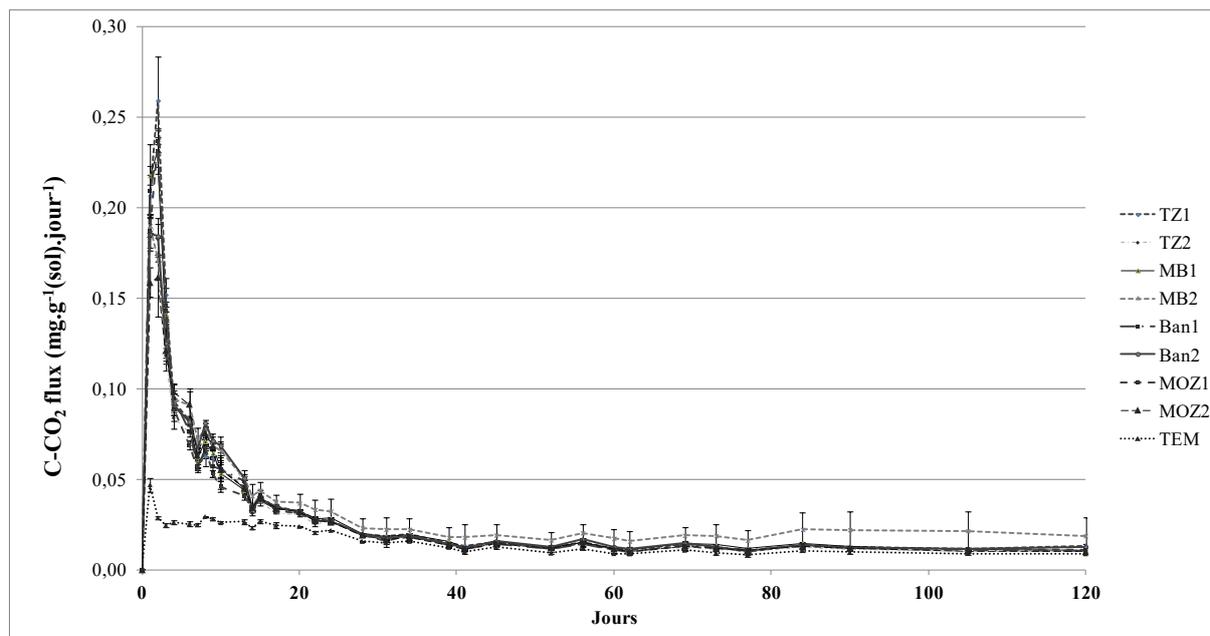


Figure 3 : Flux de CO₂ en mg.g (sol)⁻¹.jour⁻¹ des sols amendés avec les feuilles de *Jatropha* des provenances Tanzanie (TZ1 : vert ; TZ2 : jaune), Mozambique (MOZ1 : vert ; MOZ2 : jaune), Banfadjiré (Ban1 : vert ; Ban2 : jaune) et Madiop Boye (MB1 : vert ; MB2 : jaune) et des sols non amendés (TEM : Témoin).

Les données de perte de carbone des feuilles de *Jatropha* sur les sols ont été bien ajustées au modèle de décomposition double exponentiel (Figures 4, 5, 6 et 7) avec des coefficients de détermination variant entre 99% et 99,9% (Tableau 3). Le carbone labile de même que les coefficients de décomposition k_1 des feuilles n'ont pas été significativement différents entre origines, mais significativement plus élevés avec les résidus verts qu'avec les résidus jaunes ($p < 0,05$).

Le carbone récalcitrant, lentement décomposé, a eu des coefficients de décomposition k_2 qui ont été globalement les mêmes dans tous les types de résidus de toutes les provenances excepté la provenance Madiop Boye qui se différencie légèrement de la provenance Tanzanie ($p=0,044$) et celle de Mozambique ($p=0,04$). Les teneurs initiales en cellulose des feuilles ont été corrélées négativement avec les taux de décomposition k_1 ($p < 0,05$; $R^2=0,707$). Le coefficient de décomposition k_2 n'a été corrélé avec aucun paramètre chimique initial des feuilles.

Tableau 3 : Paramètres du modèle de décomposition des feuilles avec k_1 , le taux de décomposition du carbone labile et k_2 , le taux de décomposition du carbone récalcitrant des résidus verts et jaunes (les écart-types sont mis entre parenthèse).

Degré de maturité des feuilles	Provenances	k_1 (jour ⁻¹)	k_2 (jour ⁻¹)	Carbone labile (%)	Equations	R ²
Résidus verts	Banfadjiré	0,23 (0,019)	0,001 (0,0002)	29,39 (1,70)	$Ct = 29,39e^{-0,23t} + 70,61e^{-0,001t}$	0,995
	Madiop Boye	0,24 (0,001)	0,002 (0,0002)	29,99 (1,09)	$Ct = 29,99e^{-0,24t} + 70,01e^{-0,002t}$	0,998
	Mozambique	0,25 (0,009)	0,001 (0,0002)	26,67 (1,92)	$Ct = 26,67e^{-0,25t} + 73,33e^{-0,001t}$	0,99
	Tanzanie	0,25 (0,012)	0,002 (0,0001)	29,77 (1,65)	$Ct = 29,77e^{-0,25t} + 70,23e^{-0,002t}$	0,997
Résidus jaunes	Banfadjiré	0,19 (0,015)	0,002 (0,0003)	28,00 (0,43)	$Ct = 28e^{-0,19t} + 72e^{-0,002t}$	0,999
	Madiop Boye	0,26 (0,073)	0,006 (0,005)	22,67 (4,58)	$Ct = 22,67e^{-0,26t} + 77,33e^{-0,006t}$	0,991
	Mozambique	0,18 (0,008)	0,001 (0,0002)	27,80 (1,14)	$Ct = 27,8e^{-0,18t} + 72,2e^{-0,001t}$	0,990
	Tanzanie	0,19 (0,006)	0,001 (0,0002)	27,26 (0,47)	$Ct = 27,26e^{-0,19t} + 72,74e^{-0,001t}$	0,998

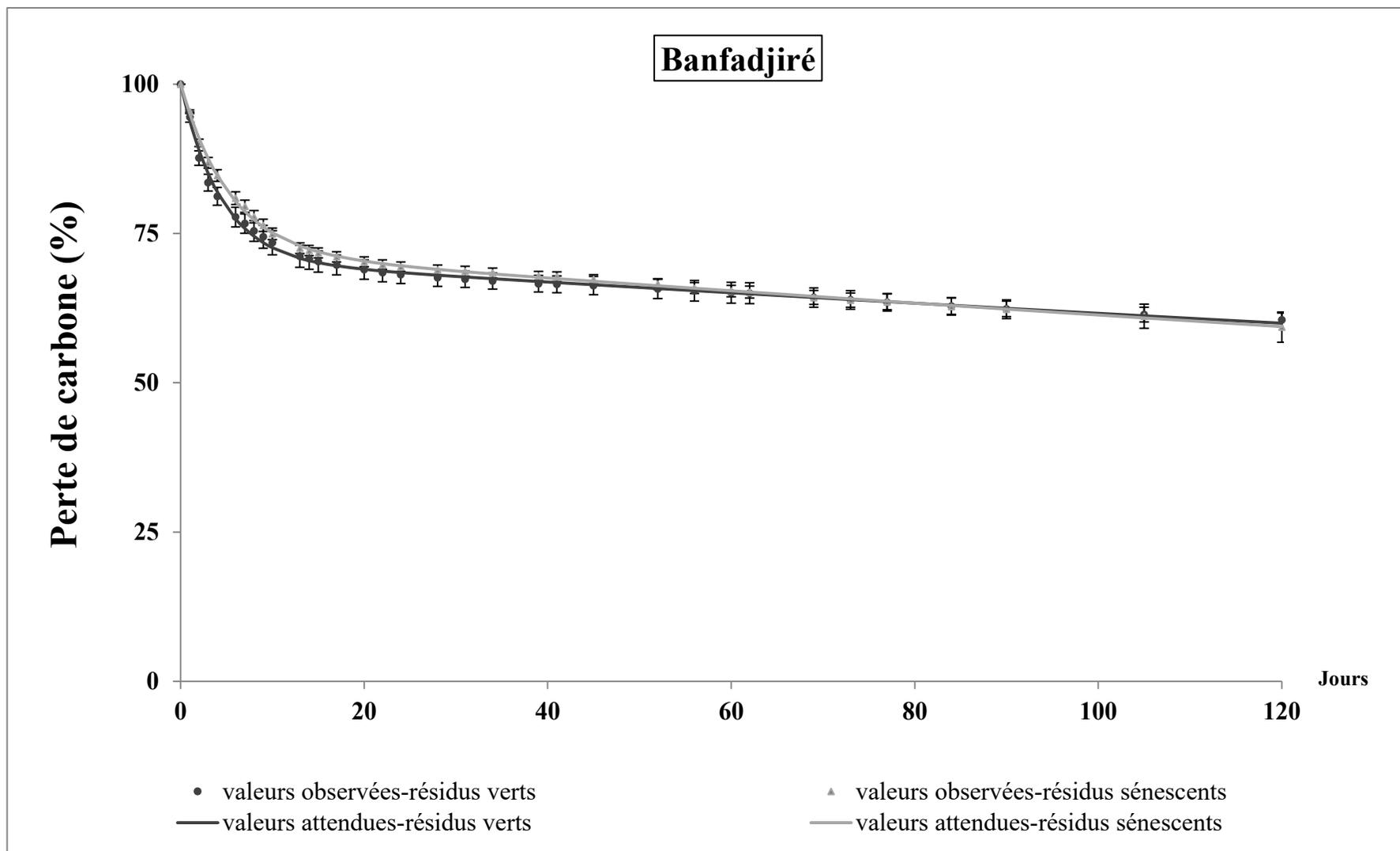


Figure 4: Perte de carbone (%) des feuilles vertes et jaunes de la provenance Banfadjiré ; les points représentent les valeurs observées (les barres sont les écart-types) et les lignes représentent les valeurs attendues par le modèle.

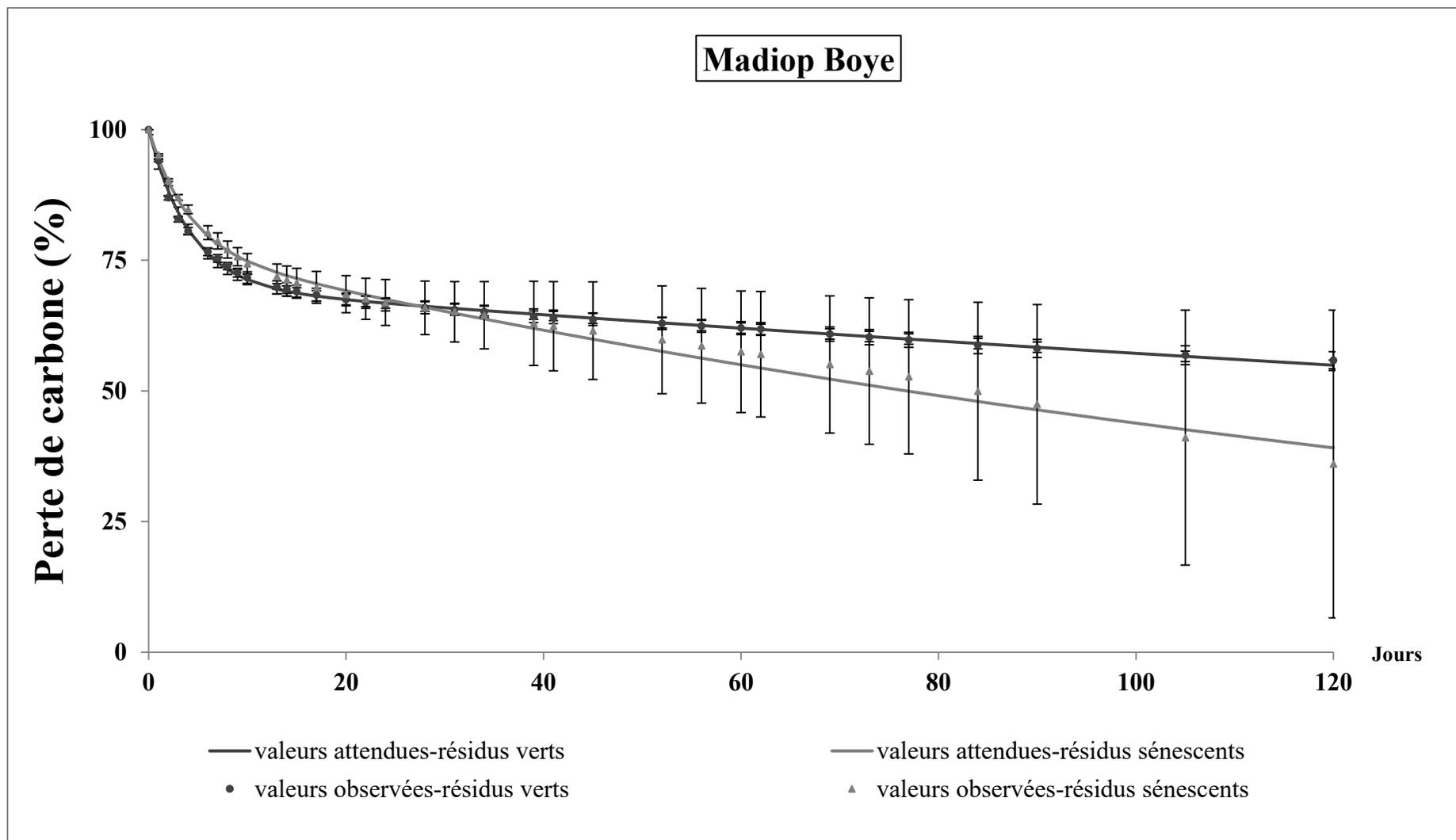


Figure 5: Perte de carbone (%) des feuilles vertes et jaunes de la provenance Madiop Boye ; les points représentent les valeurs observées (les barres sont les écart-types) et les lignes représentent les valeurs attendues par le modèle.

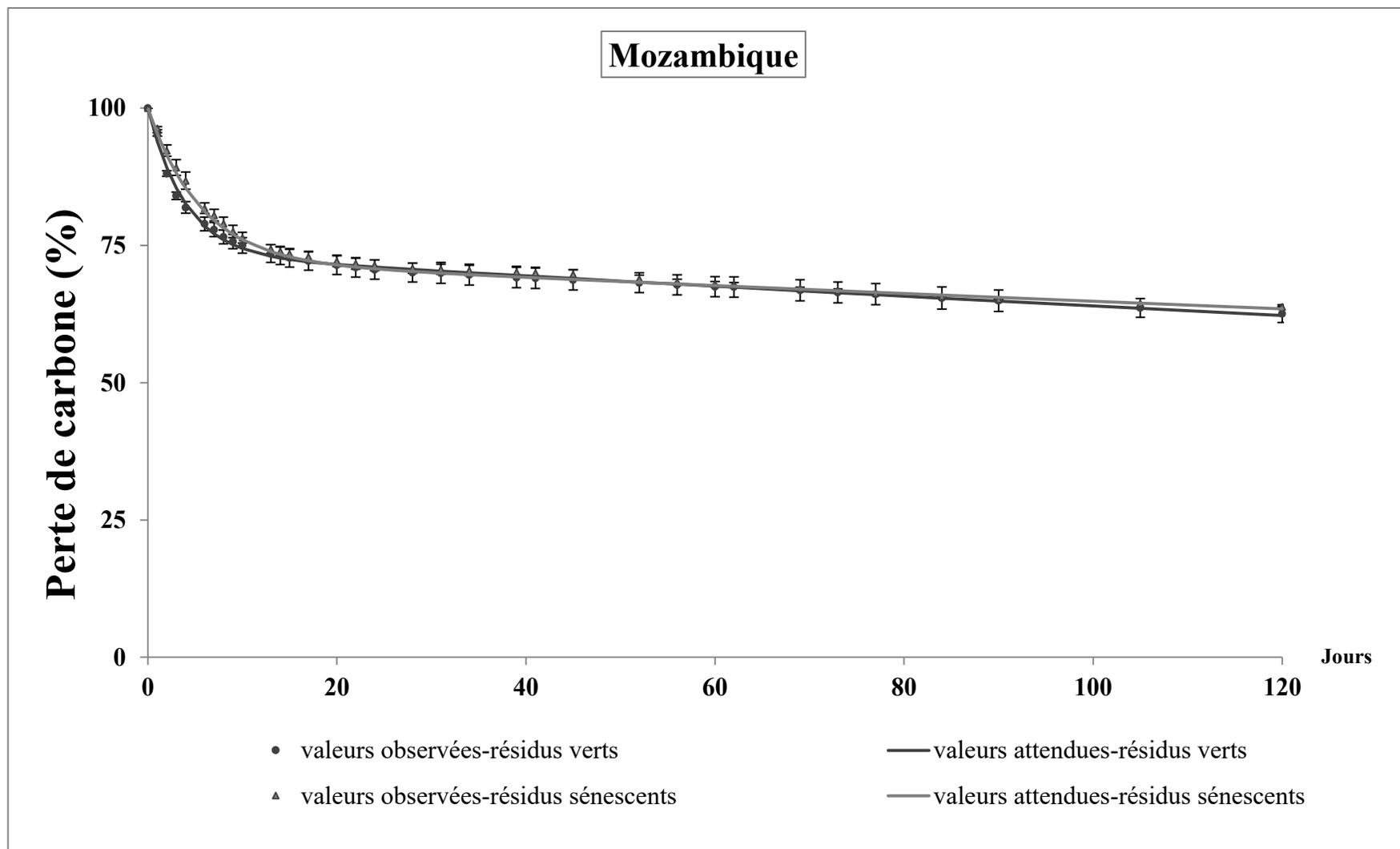


Figure 6: Perte de carbone (%) des feuilles vertes et jaunes de la provenance Mozambique ; les points représentent les valeurs observées (les barres sont les écart-types) et les lignes représentent les valeurs attendues par le modèle.

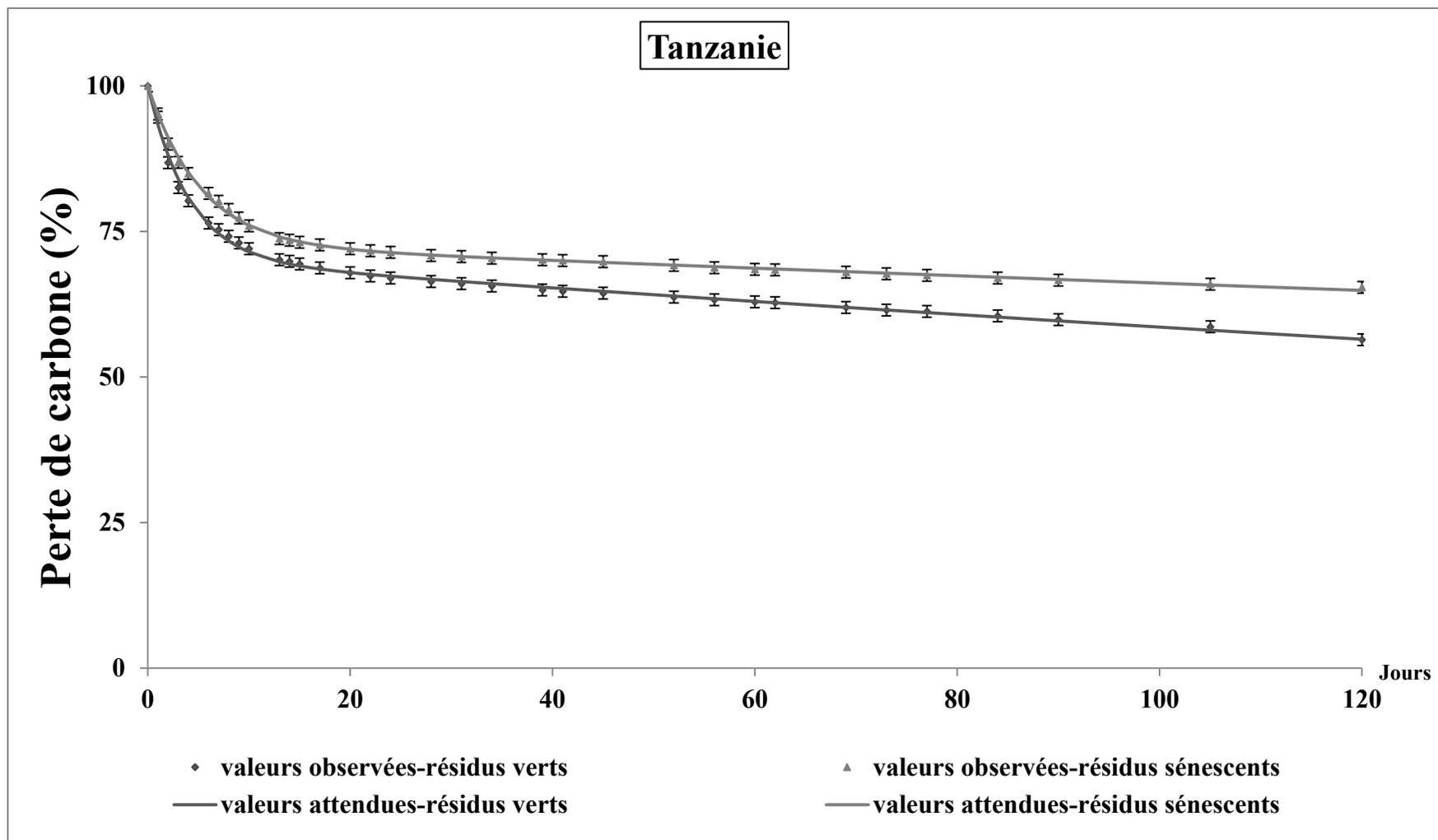


Figure 7: Perte de carbone (%) des feuilles vertes et jaunes de la provenance Tanzanie ; les points représentent les valeurs observées (les barres sont les écart-types) et les lignes représentent les valeurs attendues par le modèle.

III-3-La minéralisation de l'azote

III-3-1-La Minéralisation nette de l'azote

La minéralisation nette de l'azote est représentée par la figure 8. A trois jours d'incubation, nous avons observé une immobilisation de l'azote dans les traitements TZ1, TZ2 et MB2 ; les taux d'immobilisation ont été significativement ($p < 0,0001$) plus élevés avec le traitement MB2 ($-16,5 \mu\text{g} (\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+) \text{g}^{-1} \text{sol}$) qu'avec les traitements TZ1 et TZ2 qui n'ont pas montré de différences significatives. Cependant, une minéralisation de l'azote a été observée avec les autres traitements ; les valeurs les plus élevées significativement ont été obtenues avec Ban1 ($40,5 \mu\text{g} (\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+) \text{g}^{-1} \text{sol}$) et Moz1 ($34,2 \mu\text{g} (\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+) \text{g}^{-1} \text{sol}$) qui ont été significativement différentes ($p < 0,0001$) et significativement différentes des autres traitements.

A 28 jours d'incubation, le taux d'immobilisation a augmenté avec TZ2 qui passe de $-8,95 \mu\text{g} (\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+) \text{g}^{-1} \text{sol}$ d'azote à $-28,8 \mu\text{g} (\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+) \text{g}^{-1} \text{sol}$ d'azote qui a été significativement différent des taux observés avec les autres traitements entraînant une immobilisation (MB1, MB2 et Ban2). Le Traitement Ban1 a entraîné les taux de minéralisation les plus élevés significativement ($36,6 \mu\text{g} (\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+) \text{g}^{-1} \text{sol}$; $p < 0,0001$). Entre 28 jours et 56 jours d'incubation, nous avons observé une minéralisation de l'azote dans tous les traitements à l'exception de TZ2 ($-12 \mu\text{g} (\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+) \text{g}^{-1} \text{sol}$).

Le Traitement Ban1 a montré les taux de minéralisation les plus élevés à 56 jours ($p < 0,0001$). Cependant, à 90 jours, une baisse de la minéralisation avec ce traitement a été observé dont les teneurs en azote minéral sont passées de $37,6 \mu\text{g} (\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+) \text{g}^{-1} \text{sol}$ à $18,6 \mu\text{g} (\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+) \text{g}^{-1} \text{sol}$. La minéralisation nette de l'azote à 90 jours a été corrélée négativement avec la teneur initiale en lignine des feuilles ($R^2 = 0,54$; $p < 0,05$).

La minéralisation de l'azote induite par le traitement Ban1 a augmenté à 120 jours ($40,4 \mu\text{g} (\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+) \text{g}^{-1} \text{sol}$) qui a été significativement différente de la minéralisation induite par les autres traitements ($p < 0,0001$). A 120 jours également nous avons observé des taux de minéralisation de l'azote élevés avec TZ1 ($28,3 \mu\text{g} (\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+) \text{g}^{-1} \text{sol}$), mais une immobilisation avec TZ2 ($-22,5 \mu\text{g} (\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+) \text{g}^{-1} \text{sol}$) et MB2 ($-2,6 \mu\text{g} (\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+) \text{g}^{-1} \text{sol}$) a également été notée.

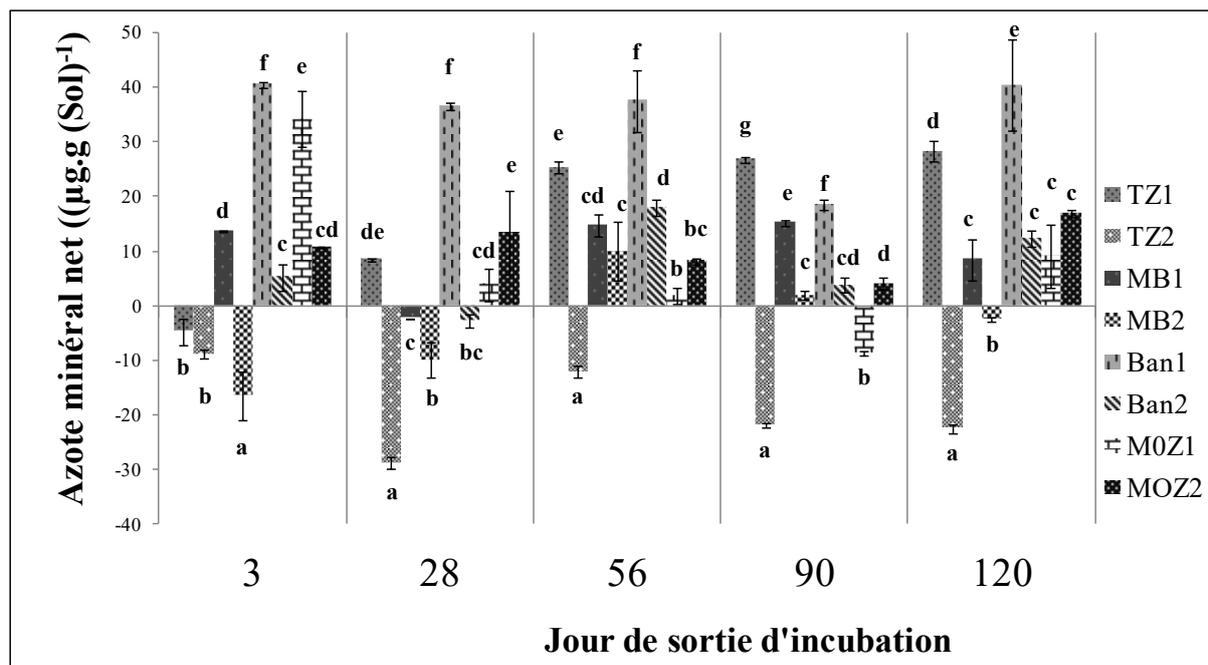


Figure 8 : Minéralisation nette de l'azote des sols amendés avec les feuilles de *Jatropha* des différentes provenances (TZ=Tanzanie ; MOZ=Mozambique ; Ban=Banfadjiré ; MB=Madiop Boye ; ¹=feuilles vertes ; ²=feuilles jaunes ; pour chaque sortie d'incubation, les lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes : $p < 0,05$).

III-3-2-La nitrification

La nitrification est représentée par la figure 9. A 3 jours d'incubation, une immobilisation des nitrates a été observée avec les traitements TZ1, TZ2 et MB2 qui n'ont pas montré de différences significatives ($p < 0,0001$) ; alors que les autres traitements ont entraîné une nitrification avec des valeurs significativement élevées avec les traitements Ban1 ($26,8 \mu\text{g N-NO}_3^- \text{g}^{-1} \text{sol}$) et MOZ1 ($23,2 \mu\text{g N-NO}_3^- \text{g}^{-1} \text{sol}$).

Tout comme l'azote minéral net, l'immobilisation des nitrates à 28 jours d'incubation a augmenté avec le traitement TZ2 avec des valeurs qui sont passées de $-5,6 \mu\text{g N-NO}_3^- \text{g}^{-1} \text{sol}$ (3 jours) à $-21,8 \mu\text{g N-NO}_3^- \text{g}^{-1} \text{sol}$ et le traitement Ban1 a entraîné les taux de nitrification les plus élevés ($29,7 \mu\text{g N-NO}_3^- \text{g}^{-1} \text{sol}$; $p < 0,0001$) suivi des traitements Moz1 ($17,9 \mu\text{g N-NO}_3^- \text{g}^{-1} \text{sol}$) et MOZ2 ($13,3 \mu\text{g N-NO}_3^- \text{g}^{-1} \text{sol}$).

A 56 jours d'incubation, la même tendance que la minéralisation nette de l'azote a également été observée avec la nitrification. En effet, tous les traitements à l'exception de TZ2 ($-1,7 \mu\text{g N-NO}_3^- \text{g}^{-1} \text{sol}$) ont entraîné une nitrification et les valeurs les plus élevées ont été

obtenues avec les feuilles de Banfadjiré (Ban1 : 34,8 $\mu\text{g N-NO}_3^- \text{g}^{-1}$ sol et Ban2 : 28,7 $\mu\text{g N-NO}_3^- \text{g}^{-1}$ sol).

La même tendance observée à 56 jours a été notée à 90 et à 120 jours, cependant, la nitrification a diminué avec tous les traitements à 90 jours et l'immobilisation des nitrates avec le traitement TZ2 a augmenté au fur et à mesure (-11,2 $\mu\text{g N-NO}_3^- \text{g}^{-1}$ sol à 90 jours et -15,1 $\mu\text{g N-NO}_3^- \text{g}^{-1}$ sol à 120 jours).

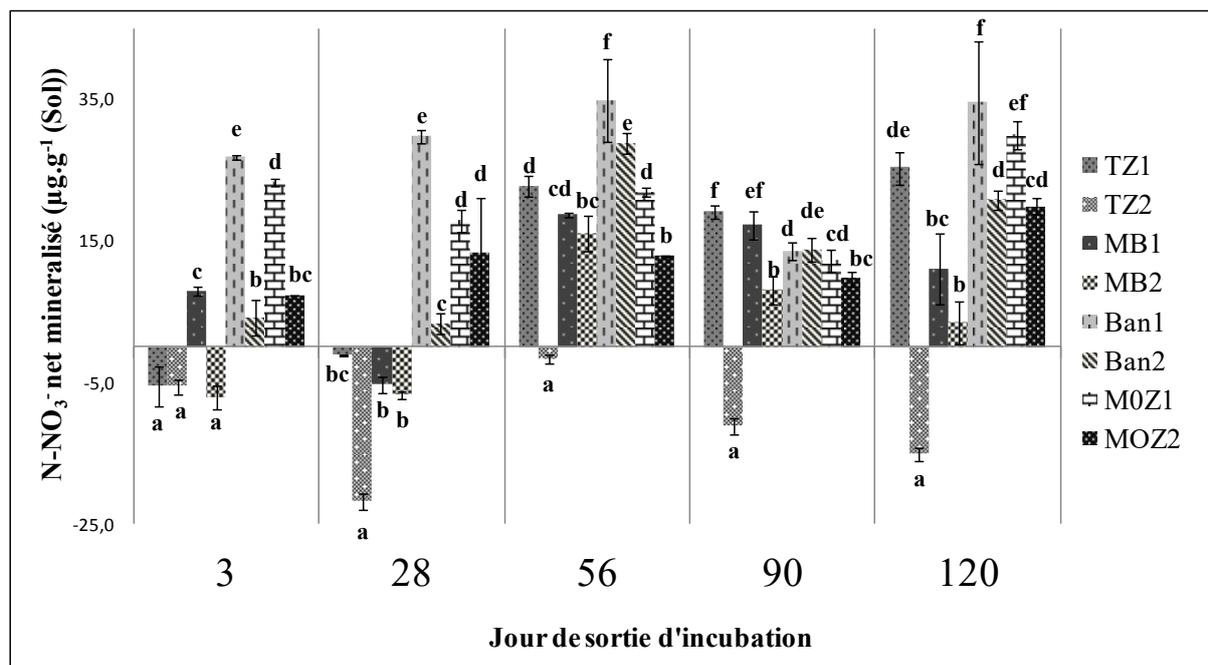


Figure 9 : Nitrification des sols amendés avec les feuilles de *Jatropha* des différentes provenances (TZ=Tanzanie ; MOZ=Mozambique; Ban=Banfadjiré; MB=Madiop Boye ; 1=feuilles vertes ; 2=feuilles jaunes ; pour chaque sortie d'incubation, les lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes : $p < 0,05$).

III-3-3-L'ammonification

L'ammonification est représentée par la figure 10. Au début de l'incubation (3 jours), nous avons noté une immobilisation de l'ammonium avec les traitements TZ2 (-3,3 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1}$ sol) et MB2 (-9,4 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1}$ sol) qui dont les valeurs ont été significativement différentes. Par contre, les autres traitements ont entraîné une ammonification avec des valeurs faibles avec les traitements TZ1 (0,9 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1}$ sol) et Ban2 (1,1 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1}$ sol). Cependant, nous avons noté les valeurs les plus élevées significativement ($p < 0,0001$) avec les traitements Ban1 (13,8 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1}$ sol) et MOZ1 (11 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1}$ sol).

A partir de 28 jours, les traitements Ban2 (-6,1 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{sol}$) et MOZ1 (-13,9 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{sol}$) ont commencé à entraîner une immobilisation de l'ammonium et un faible taux d'ammonification a été observé avec MOZ2 (0,1 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{sol}$). Les taux d'ammonification les plus élevés ont été induits par les traitements TZ1 (9,7 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{sol}$), Ban1 (6,9 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{sol}$) et MB1 (3,1 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{sol}$).

De 56 à 120 jours, seuls les traitements TZ1 et MB1 ont entraîné une ammonification et pendant cette période, le traitement MOZ1 a induit les taux d'immobilisation les plus élevés significativement (-20 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{sol}$ à 56 jours et -20,8 $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{sol}$ à 90 et 120 jours ; $p < 0,0001$).

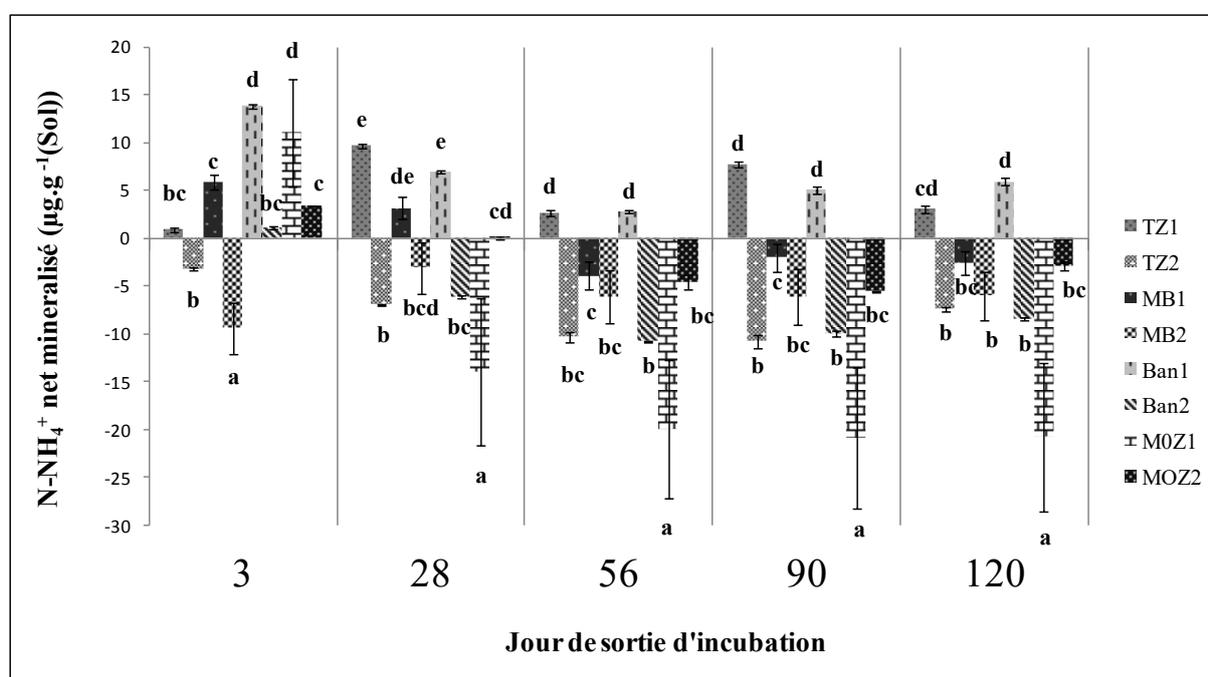


Figure 10 : Ammonification des sols amendés avec les feuilles de *Jatropha* des différentes provenances (TZ=Tanzanie ; MOZ=Mozambique ; Ban=Banfadjiré ; MB=Madiop Boye ; ¹=feuilles vertes ; ²=feuilles jaunes ; pour chaque sortie d'incubation, les lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes : $p < 0,05$).

L'ammonification a été négativement corrélée ($p < 0,05$) à la teneur en lignine à 28 jours ($R^2=0,62$), à 56 jours ($R^2=0,53$) et à 90 jours ($R^2=0,62$) alors qu'en début d'incubation (3 jours) l'ammonification a été positivement corrélée à la teneur initiale en azote total des litières ($p < 0,05$; $R^2=0,53$).

III-4-Structure des communautés bactériennes

L'analyse de la dynamique de la structure génétique bactérienne durant la décomposition des feuilles de Jatropha par l'analyse des gels DGGE utilisant la méthode de l'UPGMA (Unweighted Pair Group Method for Arithmetic average) a montré que les communautés bactériennes étaient structurées en fonction du temps, mais pas en fonction des provenances ni en fonction du type de résidu (Figure 11). En effet, le dendrogramme de similarité généré a été subdivisé en groupe ou cluster en fonction du temps d'incubation. Sur ce dendrogramme, les clusters I et II se distinguaient avec 72 % de similarité. Le cluster I a été subdivisé en deux sous-clusters (76% de similarité) : le sous-cluster A qui regroupait les temps d'incubations 0 et 3 jours et le sous cluster B était constitué des sorties 28 et 56 jours. Le deuxième cluster regroupait les temps 90 et 120 jours d'incubation.

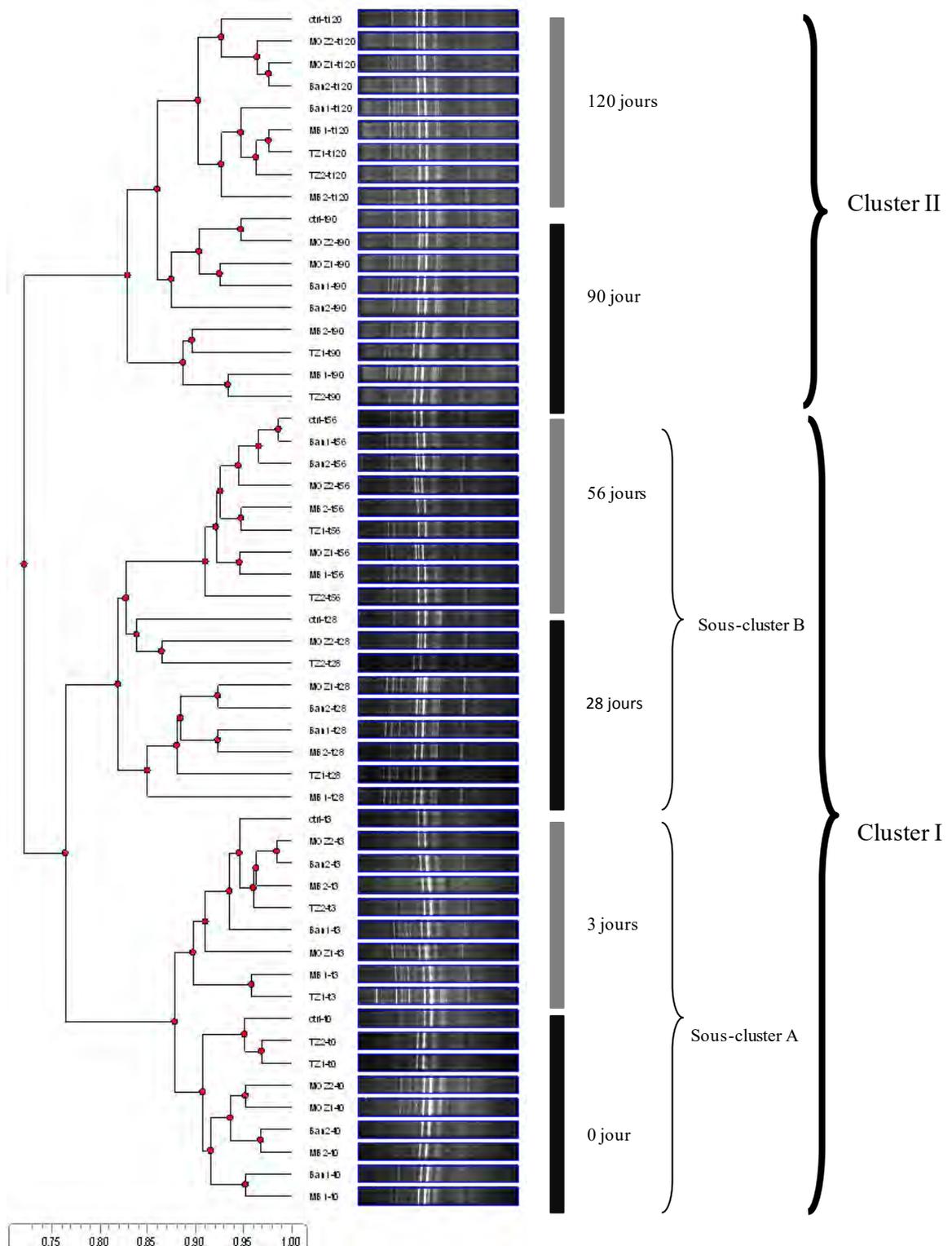


Figure 11 : Dendrogramme UPGMA des communautés bactériennes à 0, 3, 28, 56, 90 et 120 jours (Ban=Banfadjiré ; MB= Madiop Boye ; MOZ=Mozambique ; Ctrl=témoin ; TZ=Tanzanie ; 1=résidu vert et 2=résidu jaune).

III-5-Analyse en Composante Principale (ACP)

Pour l'analyse en composante principale, le plan factoriel composé des axes F1/F2 a été retenu car expliquant 85,89 % de la variance (Figure 12). Cette ACP nous a montré que les étapes avancées de la décomposition ont été caractérisées par une diversité de Shannon et un cumul de CO₂ élevés à l'exception du sol témoin. Ainsi, l'apport de feuilles de *Jatropha* au sol a eu un impact positif sur la diversité bactérienne totale. La diversité de Shannon de même que le cumul de CO₂ ont été négativement corrélés avec le ratio C/N sur l'axe F₁ (52,84%) de l'analyse en composante principale. L'analyse en composante principale nous a également montré que les teneurs en azote minéral des sols pendant la décomposition ont été négativement corrélées avec le ratio C/N des sols sur l'axe F₂ (33,05%).

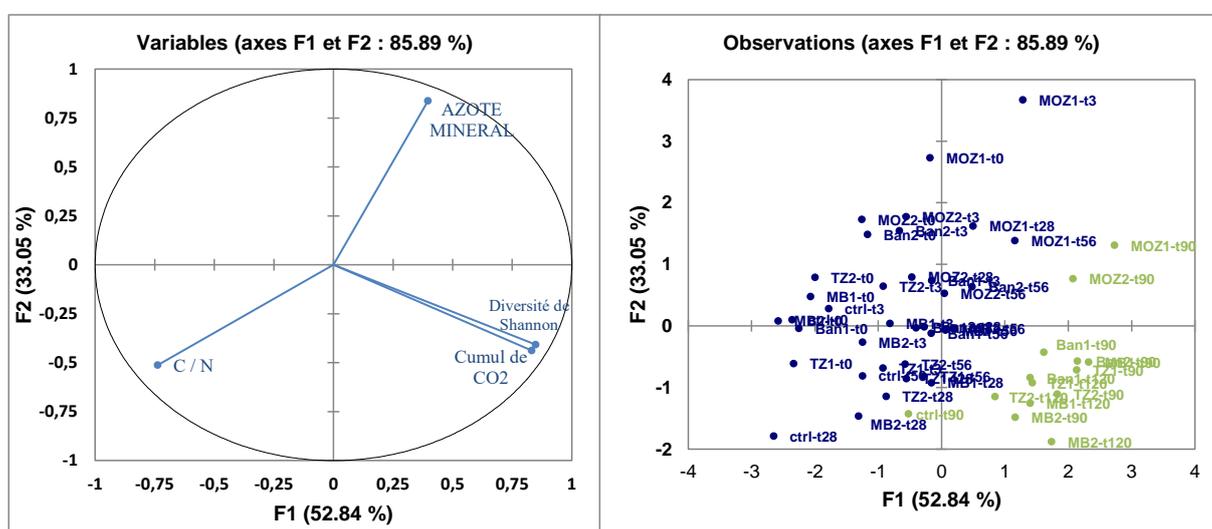


Figure 12: Analyse en composante principale des variables azote minéral, ratio C/N, le cumul des dégagements de CO₂ et la diversité de Shannon des différents traitements au cours du temps.

IV-DISCUSSION

IV-1- Composition chimique des litières de *Jatropha*

Les teneurs en carbone, en azote et le ratio C/N varient en fonction de l'origine des plantes de *Jatropha*, Lecerf et Chauvet (2008) ont montré une diversité intraspécifique des caractéristiques des litières en fonction de leur origine géographique. Les teneurs en lignine, en carbone et en azote des feuilles de *Jatropha* trouvées dans notre étude sont similaires à celles trouvées chez différentes plantes dans les études de Hättenschwiler *et al.* (2008). Les teneurs

en lignine des feuilles vertes sont similaires aux teneurs en lignine de *Jatropha* des travaux de Abugre *et al.* (2011) à l'exception des feuilles vertes de la provenance Mozambique. Cependant, les études de Chaudhary *et al.* (2014) révèlent des teneurs en lignine de 5,48 %, des teneurs faibles par rapport à notre étude. La diversité phénotypique des plants de *Jatropha* pourrait expliquer les différences de composition chimique des litières de *Jatropha*. Les feuilles vertes de *Jatropha* ont des compositions en azote plus élevées que les feuilles jaunes ; ceci résulte de la résorption des nutriments contenus dans les feuilles avant l'abscission. La résorption, un processus pendant laquelle les nutriments sont réabsorbés par la plante avant la chute des feuilles (Wright et Westoby, 2003), semble dépendre de l'origine des plants de *Jatropha*. En effet, chez cette plante qui perd toutes ses feuilles pendant la saison sèche ou quand la pluviométrie est réduite, la résorption est plus accentuée avec la provenance exotique Mozambique comparée aux provenances locales. Ce qui suggère une adaptation locale des plantes aux divers climats (Ramírez-Valiente *et al.*, 2010).

IV -2-Minéralisation du carbone et de l'azote

Nos données de minéralisation du carbone des feuilles de *Jatropha* dans les sols ont été bien ajustées au modèle de décomposition double exponentiel. Ce modèle assume en moyenne un taux de 28% de carbone labile et 72 % de carbone récalcitrant. Les vitesses de décomposition du compartiment labile sont plus élevées que les vitesses de décomposition du compartiment récalcitrant ; ce qui est en adéquation avec les cinétiques de décomposition des litières des études de Patrício *et al.* (2012). La décomposition des composés récalcitrants joue un rôle important dans le stockage de la matière organique. Les feuilles de *Jatropha* peuvent être considérées comme étant des feuilles à décomposition lente avec 72 % de carbone récalcitrant. Ainsi, la décomposition lente des litières des plantes natives peut augmenter le stockage du carbone et améliorer la fertilité des sols (Vauramo et Setälä, 2011).

Dans cette présente étude, le taux de carbone labile des feuilles de même que leurs coefficients de décomposition k_1 ont été significativement plus élevés avec les résidus frais qu'avec les résidus sénescents ($p < 0,05$). De plus, les teneurs initiales en cellulose ont été corrélées négativement avec les taux de décomposition k_1 ($p < 0,05$; $R^2 = 0,707$). Ainsi, la composition chimique des litières est le principal facteur expliquant les variations de minéralisation du carbone de ces résidus de plantes (Cleveland *et al.*, 2013). Dans plusieurs études, cette décomposition des matières organiques a été négativement corrélée à la

composition en cellulose, hémicellulose, lignine et au ratio C/N (Madritch and Hunter, 2003 ; Arriaga et Maya, 2007 ; Lecerf et Chauvet, 2008 ; Pascault *et al.*, 2010 ; Beyaert et Paul Voroney, 2011 ; Li *et al.*, 2011 ; Allison, 2012 ; Bray *et al.*, 2012). L'évolution de la composition chimique des litières au cours des processus de transformation biochimique tout comme leur composition chimique initiale influence la cinétique de décomposition du fait que la décomposition des résidus organiques est proportionnelle à la quantité de résidu disponible pour les microorganismes (Diack *et al.*, 2000).

Dans notre étude, la minéralisation nette de l'azote montre la même tendance que la nitrification ; ce qui est en adéquation avec les études de Azeez and Van Averbek (2010). Cette similarité entre la minéralisation de l'azote organique et la nitrification implique que l'ammonium est rapidement transformé en nitrates (Azeez et Van Averbek, 2010). Les teneurs en ammonium des sols sont négativement corrélées ($p < 0,05$) avec les teneurs en lignine des feuilles à 28, 56 et 90 jours alors qu'en début d'incubation (3 jours) l'ammonification est positivement corrélée à la teneur initiale en azote total des litières. Ceci suppose que l'ammonification est sous le contrôle de la teneur en azote des feuilles de *Jatropha* dans les étapes précoces de la décomposition alors que dans les étapes avancées de la décomposition, l'ammonification est contrôlée par la teneur initiale des feuilles en lignine.

L'immobilisation de l'azote minéral pourrait s'expliquer par une utilisation de cette forme minérale de l'azote par les communautés microbiennes et que l'azote est limitant dans le milieu. Les phases de minéralisation correspondraient à une phase de décomposition de l'azote organique par les communautés microbiennes ayant acquis l'énergie nécessaire pour pouvoir fournir des enzymes impliquées dans la minéralisation de l'azote.

IV-3-Activité et structure des communautés microbiennes au cours des processus de minéralisation

Notre étude montre une élévation du flux de CO₂ durant les premières semaines d'incubation de sols amendés avec les résidus de *Jatropha* ; cette augmentation du flux de CO₂ des sols en réponse à l'apport de résidus organiques a été observée dans des études antérieures (Sall *et al.*, 2003 ; Dossa *et al.*, 2009 ; Cleveland *et al.*, 2013). L'augmentation du flux de CO₂ suggère une augmentation de l'activité microbienne correspondant à l'utilisation des composés facilement minéralisables contenus dans les litières (Esperschütz *et al.*, 2013).

Dans les dernières étapes du processus de décomposition des litières, nous avons noté une diminution de l'activité des communautés microbiennes due au fait que durant ces étapes, ce sont les composés récalcitrants dont la décomposition est lente (Esperschütz *et al.*, 2013) qui sont présents dans les milieux.

La différence de composition chimique entre les feuilles fraîches et sénescents n'ont pas d'effets visibles sur la structure des communautés bactériennes étudiée par la DGGE. Cependant, une structuration des communautés bactériennes au cours du temps a été observée. Cette structuration au cours du temps s'expliquerait par l'influence de la modification de la composition chimique des résidus au cours du processus de décomposition (Bray *et al.*, 2012).

Les litières de *Jatropha* sont des litières à décomposition lente avec des teneurs en lignine et des ratios C/N élevés. D'après Pfeiffer *et al.* (2013), les litières avec de faibles taux de lignine et des ratios C/N bas, donc à décomposition rapide, impacteraient moins la communauté bactérienne du sol que les litières à décomposition lente comme les litières de *Jatropha*. D'où l'importance de ces résidus de *Jatropha* sur la composition des communautés bactériennes des sols.

V-Conclusion

L'origine des plants de *Jatropha* et le type de résidu (frais ou sénescents) ont un effet significatif sur la teneur en azote et sur le ratio C/N des feuilles. Quelle que soit l'origine des plantes, les résidus verts (frais) présentent des teneurs en azote élevées et des rapports C/N faibles par rapport aux résidus sénescents. L'incorporation de ces feuilles de *Jatropha* au sol entraîne une augmentation de l'activité microbienne ; une activité plus élevée avec les feuilles fraîches jusqu'à trois jours d'incubation au laboratoire. *Jatropha curcas* L. est une plante qui modifie la structure des communautés bactériennes du sol à travers sa litière foliaire avec une dynamique de la structure génétique bactérienne au cours de la décomposition de cette litière de *Jatropha*. Cet apport de feuilles de *Jatropha* au sol a un impact positif sur la diversité bactérienne totale. Le modèle de décomposition double exponentiel est bien ajusté à nos données de minéralisation du carbone des feuilles de *Jatropha* en conditions contrôlées. Ce modèle indique que les pourcentages de carbone récalcitrant des litières de *Jatropha* varient entre 70,01% et 73,33% du carbone total pour les feuilles fraîches et entre 72% et 77,33% pour les feuilles sénescents. Ainsi, à long terme, une accumulation du carbone dans les sols est

observée montrant ainsi l'importance des résidus foliaires de Jatropha dans le stockage du carbone dans les sols.

**Chapitre III : Structure et activité des communautés
microbiennes dans les sols cultivés avec *Jatropha*
curcas L. au champ**

Chapitre III: Structure et activité des communautés microbiennes dans les sols cultivés avec *Jatropha curcas* L. au champ

I-Introduction

Les agrocarburants continuent de susciter l'intérêt de certains acteurs en Afrique pour l'amélioration des secteurs énergétique et agricole. La plante productrice de biocarburant, *Jatropha curcas* L. (JCL), en tant que culture génératrice de revenus, pourrait constituer un atout supplémentaire pour l'amélioration de la sécurité économique des ménages (Bruggeman *et al.*, 2010). *Jatropha curcas* est une plante qui peut être utilisée comme biocarburant tout en offrant des bénéfices liés à une afforestation de zones dont le couvert végétal est fortement dégradé voire offrir des possibilités de séquestration du carbone (Srivastava *et al.*, 2014). Dans la zone soudano-sahélienne Ouest africaine, JCL est traditionnellement présent dans les villages, implanté sous forme de haies vives protégeant ainsi les champs et utilisé principalement pour des vertus médicinales (Diédhiou *et al.*, 2012). De plus, *Jatropha curcas* est souvent cultivé en association avec les cultures du mil, du maïs, du sorgho, de l'arachide et du niébé (Diédhiou *et al.*, 2012).

La culture de *Jatropha* entraîne une augmentation de la biomasse microbienne du sol (Singh *et al.*, 2013 ; Srivastava *et al.*, 2014). L'augmentation de la biomasse microbienne du sol par la culture d'une plante est due à la disponibilité des nutriments dans la rhizosphère de cette plante favorable à la croissance de ces communautés microbiennes (Srivastava *et al.*, 2014). Cette disponibilité des nutriments, plus précisément du carbone dans les sols, est liée à une augmentation de l'activité enzymatique de la bêta-glucosidase des sols (Lagomarsino *et al.*, 2009 ; Moscatelli *et al.*, 2012 ; Chaudhary *et al.*, 2015). Les études de Singh *et al.* (2013) ont montré une augmentation de l'activité enzymatique de la bêta-glucosidase et de la protéase qui sont respectivement impliquées dans les cycles du carbone et de l'azote avec la culture de *Jatropha*. L'activité enzymatique de la phosphatase acide (cycle du phosphore) et l'activité respiratoire microbienne (respiration basale) sont significativement élevées dans les sols cultivés par rapport aux sols non cultivés (Brzostek *et al.*, 2013).

L'activité enzymatique extracellulaire, un paramètre étroitement lié aux propriétés physiques du sol et à sa teneur en matière organique de même qu'à l'activité et à la biomasse

microbienne, constitue un bon indicateur biologique de la qualité des sols (Moscatelli *et al.*, 2012). Les activités enzymatiques de la bêta-glucosidase, de la phosphatase acide et de l'uréase (cycle de l'azote) font partie d'une large gamme d'activités enzymatiques donnant des indications rapides sur les changements de fertilité du sol (Caravaca *et al.*, 2005).

Plusieurs études ont été menées sur l'impact de *Jatropha* sur les communautés microbiennes et les caractéristiques des sols (Ogunwole *et al.*, 2008 ; Chaudhary *et al.*, 2011, 2012, 2015 ; Wani *et al.*, 2012 ; Dieng *et al.*, 2014, 2015 ; Srivastava *et al.*, 2014), sur sa diversité génétique (Ndir *et al.*, 2013 ; Ouattara *et al.*, 2014) et phénotypique (Diédhiou *et al.*, 2012) de provenances locales et exotiques au Sénégal ; mais à notre connaissance peu d'études se sont intéressées à l'influence de la diversité des plants de *Jatropha* sur la diversité des microorganismes et sur les propriétés chimiques du sol.

Les communautés microbiennes des sols jouent un rôle d'une importance capitale dans le maintien des fonctions du sol et contribuent à la formation de sa structure, à la décomposition des résidus organiques et à la disponibilité des éléments minéraux pour les plantes (Paterson, 2003 ; Chaudhary *et al.*, 2015). Ces communautés microbiennes jouent ainsi un rôle important dans la dynamique du carbone (Srivastava *et al.*, 2012) et de l'azote (Yang *et al.*, 2013), mais aussi dans la qualité des sols ainsi que dans la productivité des plantes (Hill *et al.*, 2000).

Dès lors qu'il existe une grande variabilité phénotypique entre les populations de *J. curcas* au Sénégal (Diédhiou *et al.*, 2012), il serait donc nécessaire de déterminer l'influence de la diversité des plants de *Jatropha* et de l'introduction de plantes exotiques sur le fonctionnement des sols.

Ainsi, nous avons comme objectif d'étudier la biomasse, l'activité et la structure des communautés microbiennes des sols ainsi que les paramètres chimiques de ces mêmes sols sous la culture de six provenances de *Jatropha* dont trois locales et trois exotiques, mais aussi des systèmes de culture de *Jatropha* en association avec la culture du mil dans des plantations expérimentales implantées dans la région de Kaffrine sur le site pilote du projet *Jatropha*-UA.

II-Matériel et méthodes

II-1-Site d'étude et échantillonnage

Les échantillons de sols utilisés proviennent du village de Ngoui (13°59'44.07"N ;

15°35'52.15"O ; Figure 13) dans la région de Kaffrine. Le sol est de type ferrugineux tropical léssivé (Lixisol) selon la classification de la FAO (Khouma, 2002). Sur ce site de plantation expérimentale de *Jatropha*, deux principales parcelles ont été choisies ; la granulométrie des sols est représentée dans le tableau 4. La première parcelle est une plantation expérimentale, dite parcelle « association », avec différents facteurs étudiés dont les modalités sont réparties aléatoirement dans des blocs de culture avec des écartements de 4mx4m. On distingue ainsi un traitement de *Jatropha* pure (JAP), un traitement avec une association *Jatropha*-mil (JAM) et enfin un traitement de culture pure de mil. Pour chaque traitement, le sol rhizosphérique de trois pieds de plants a été prélevé aléatoirement à l'horizon 0-20 cm. La deuxième parcelle est une plantation expérimentale, dite parcelle « provenance » constituée de la culture de *Jatropha* provenant de différentes origines géographiques avec des écartements de 3mx3m. Nous avons trois provenances locales : Kamonghone, Fois 1 et Lompoul et trois provenances exotiques (Inde, Mozambique et Tanzanie). Pour chaque provenance, le sol rhizosphérique (horizon 0-20 cm) de trois plants a été prélevé. Dans chaque parcelle, un sol nu non cultivé a été prélevé comme sol témoin. Les sols ont ensuite été séchés au laboratoire à l'air libre puis tamisés à 2 mm avant toute expérimentation et analyse. Une aliquote de tous les échantillons de sol a été gardée à -20°C en attendant les analyses moléculaires.

La teneur en huile et les autres caractéristiques des graines des provenances de *Jatropha* ont été décrites dans les travaux de Ndir *et al.* (2013) et de Diédhiou *et al.* (2016) et les autres paramètres morphologiques sont reportés dans le tableau 5.

Tableau 4 : Granulométrie des sols des parcelles « association » et « provenance »

Parcelles	argiles %	Limons %		sables %		Total (%)
		limons fins	limons grossiers	sables fins	sables grossiers	
Parcelle Association	7,47	2,37	11,10	45,50	32,13	98,57
Parcelle Provenance	4,77	1,17	7	39,67	47,17	99,77

La granulométrie des sols a été déterminée au LAMA (Laboratoire des Moyens Analytiques ; US 122 de l'IRD Dakar, certifié ISO 9001) par la méthode de Robinson (Aubert *et al.*, 1954).

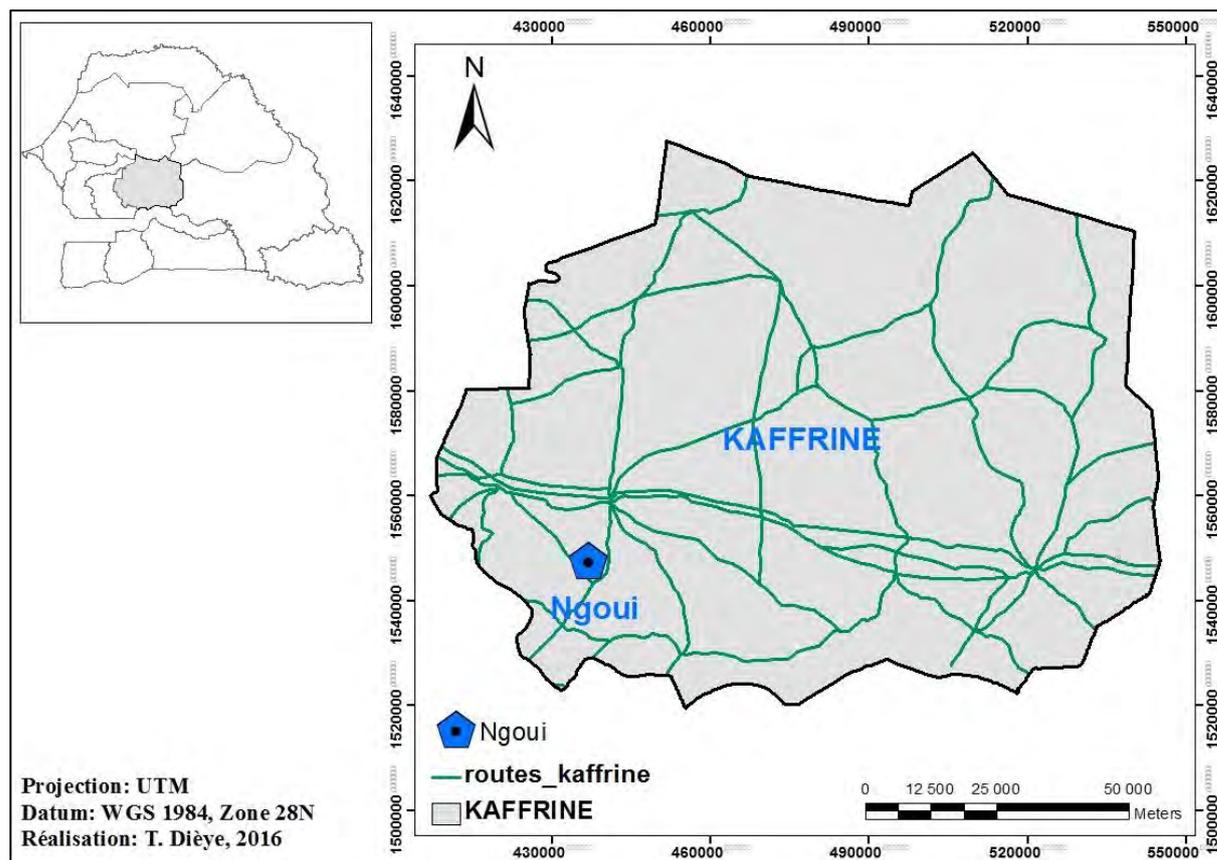


Figure 13: Localisation du site d'étude (Village de Ngoui de la région de Kaffrine)

Tableau 5: Paramètres morphologiques des différentes provenances de *Jatropha* à 27 mois après levée (24 mois après transplantation à Ngoui)

Provenances	Diamètre du collet (mm)	Diamètre du houppier (cm)	Hauteur (cm)	Nombre de branches par pied
LOMPOUL	81,30 a	180,29 a	152,35 a	13,51a
KAMONGHONE	74,19 a	134,15 ab	133,75 ab	10,98 a
FOIS 1	77,75 a	171,06 ab	141,50 ab	12,83 a
INDE	73,01 a	149,82 ab	132,75 ab	11,24 a
MOZAMBIQUE	77,42 a	161,23 ab	140,75 ab	11,79 a
TANZANIE	69,44 a	105,73 b	125,37 b	9,16 a

II-2-Analyse physico-chimique des sols

La détermination des teneurs en carbone total, en azote (total et minéral) et en phosphore total et de la texture des sols a été effectuée au LAMA (Laboratoire des Moyens Analytiques ; US 122 de l'IRD Dakar, certifié ISO 9001) avec les mêmes protocoles utilisés dans le chapitre 2. Le pH du sol a également été mesuré selon le ratio 1:2,5 (p:v) à l'aide du pH-mètre (Mettler Toledo, 320).

II-3-Détermination de la biomasse microbienne

La biomasse microbienne a été déterminée par la méthode de fumigation-extraction (Amato and Ladd, 1988). Cette méthode repose sur le dosage colorimétrique de l'azote α -aminé des parois microbiennes libéré après lyse cellulaire. Le sol a été incubé pendant 10 jours dans une atmosphère saturée en chloroforme (fumigation). L'azote α -aminé du sol, avant et après incubation, a été extrait dans une solution de KCl 1M selon la méthode de Bremner (1965) puis dosé par colorimétrie. La réaction colorimétrique est basée sur la formation d'un composé de couleur pourpre qui apparaît lorsque l'azote est mis en présence de réactifs à la ninhydrine. La lecture de la densité optique du produit a été effectuée à 570 nm à l'aide d'un spectromètre (SpectrAA 220FS, Varian Inc., Buc, France). La biomasse est exprimée en $\mu\text{g C g}^{-1}$ de sol sec en multipliant par un facteur de 21 la différence de concentration en azote α -aminé d'un échantillon de sol avant et après les 10 jours de fumigation (Amato and Ladd, 1988).

II-4-La Respiration basale

Pour l'étude de l'activité respiratoire microbienne, les échantillons de sol ont été introduits dans des flacons à plasma et humidifiés à 80% de leur capacité de rétention au champ. Les flacons contenant les échantillons de sol ont été par la suite scellés et incubés à 28°C pendant 15 jours. Le CO₂ libéré par l'activité respiratoire microbienne a été mesuré pour chaque échantillon régulièrement par prélèvement de l'air ambiant des flacons à plasma puis injection directe dans un chromatographe en phase gazeuse de type SRA Analytical Instruments (MTI P200 Microsensor Technology Inc., Fremont, CA, USA) équipé d'un détecteur à thermoconductibilité (TCD) et d'une colonne Poraplot. Les résultats ont été exprimés en $\mu\text{g CO}_2 \text{ jour}^{-1} \text{ g sol}^{-1}$.

II-5-Mesure des activités enzymatiques des microorganismes des sols

II-5-1- Dosage de l'activité de la bêta-glucosidase

L'activité de la bêta-glucosidase (bêta-glu) a été dosée à partir de la méthode colorimétrique décrite par Hayano (1973) modifiée. La réaction enzymatique produit du para-nitrophénol (de couleur jaune en milieu alcalin) dont la concentration en solution est proportionnelle à l'activité de l'enzyme. Les essais ont été constitués de 100 mg de sol frais, 0,1 ml de tampon citrate de phosphate à pH 5,8 et 100 µl de para-nitrophenyl β D-Glucopyranoside (p-NPG : concentration 5 mM ; Sigma) mélangés dans des tubes puis mis en incubation sous agitation, à 37°C pendant 2 h. La réaction a ensuite été stoppée par alcalinisation du milieu en ajoutant 3 ml de carbonate de sodium (0,2 M Na₂CO₃). Puis, le mélange a été centrifugé à 10 000 rpm pendant 5 minutes. La densité optique du surnageant a par la suite été mesurée au spectrophotomètre (Thermo Scientific, GENESYS 20) à une longueur d'onde de 400 nm. Pour chaque échantillon de sol, la concentration moyenne en para-nitrophénol de trois répétitions de l'essai est soustraite de celles du témoin et du blanc. L'activité de la β-glucosidase a été exprimée en µg p-NP g(sol)⁻¹h⁻¹ après étalonnage du spectromètre à partir d'une solution de concentration connue en p-NPG.

II-5-2-Dosage de l'activité de la phosphatase acide

L'activité de la phosphatase acide a été mesurée en incubant 100 mg de sol pendant 1h à 37°C avec 100 µl de *para*-nitrophenyl phosphate (p-NPP) et 400 µl de tampon citrate de phosphate (Mac Ilvain) à pH 5,8 (Tabatabai and Bremner, 1969). La réaction a été arrêtée par alcalinisation du milieu avec 400 µl de NaOH et 100 µl de CaCl₂. Le CaCl₂ permet de complexer les substances humiques qui sont présentes dans le milieu réactionnel. Le NaOH permet de rendre le milieu basique afin d'obtenir la coloration jaune correspondant à la libération du *para*-nitrophenol. Ensuite, la densité optique a été mesurée au spectrophotomètre (Thermo Scientific, GENESYS 20) à la longueur d'onde de 400 nm. Les résultats ont été exprimés en µg p-NP g(sol)⁻¹ h⁻¹ après étalonnage du spectromètre à partir d'une solution de concentration connue en p-NPP.

II-5-3-Dosage de l'activité de l'Uréase

L'activité enzymatique de l'Uréase a été mesurée par la méthode de Kandeler et Gerber (1988). Les essais ont été constitués de 1 g de sol mélangé avec 1,4 ml de tampon phosphate à

pH 7 et 100 µl d'urée (de concentration 1,2 M). Les tubes ont été agités pendant 2 h à 37°C. La réaction a été arrêtée par alcalinisation, en ajoutant 3 ml de chlorure de potassium 2 M. Ensuite, les tubes ont été à nouveau agités pendant 30 minutes à la température ambiante puis centrifugés à 10 000 rpm pendant 5 min. La coloration due à la présence du produit de la réaction enzymatique a été révélée en ajoutant à 1 ml du surnageant, 9 ml d'eau déminéralisée, 5 ml d'un mélange de salicylate de sodium et de nitroprussiate de sodium (1,06 M) et 2 ml d'une solution de dichloroisocyanurate de sodium (39,1 M). Ce mélange a été agité pendant 30 min et enfin la densité optique a été mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectromètre (Thermo Scientific, GENESYS 20). Les résultats ont été exprimés en $\mu\text{g N-NH}_4^+\text{g(sol)}^{-1}\text{h}^{-1}$ après étalonnage du spectromètre à partir d'une solution de concentration connue en NH_4^+ .

II-6-Etude de la structure des communautés microbiennes de la rhizosphère de *Jatropha*

II-6-1- Extraction d'ADN

L'ADN de chaque échantillon de sol a été extrait, une extraction réalisée à partir de 0,25 g de sol avec le kit « Fast spin Spin™ kit for soil » (MP biomedical, Santa Ana, CA, États-Unis). Les extraits ont été purifiés par ajout de 500 µl de guanidine thiocyanate 5,5 M.

II-6-2-Amplification d'ADN ou réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

Toutes les réactions de polymérisation en chaîne (PCR) ont été effectuées à l'aide du thermocycleur Gene AmpR PCR system 9700 (Applied, biosystem, Courboeuf, France). Les amorces (couple d'amorces) utilisées sont reportées dans le tableau 6.

Les produits issus des amplifications ont été contrôlés en faisant migrer 3 µl dans un gel d'agarose à 2 % (p/v) à 100 V pendant 30 minutes. Le gel a ensuite été coloré dans du bromure d'éthidium (BET ; 1 mg.L⁻¹) pendant 30 min puis rincé dans de l'eau déminéralisée pendant 10 min avant d'être photographié grâce à la chambre à UV à l'aide du logiciel BIO-Capt™.

II-6-2-1 Etude de la structure de la communauté bactérienne totale

L'amplification par PCR de la région V3 (16S) a été effectuée en utilisant un couple d'amorces universel : 338f flanquée d'une queue poly-GC (GC « clamp ») et 518r décrites par Muyzer *et al.* (1993). Ces amorces produisent des amplicons de 220 paires de bases. Le mélange

réactionnel de 25 µl était composé de 5 ng d'ADN, 1 µM de chaque amorce et de la Taq polymérase Ready- to-go (PuRe taq™ Ready- to-go™). La Taq se présente sous forme de bille lyophilisée composée de l'ADN polymérase 2,5U ; dNTP 200 µM ; Tris-HCl 10 mM à pH 9 ; KCl 50 mM ; MgCl₂ 1,5 mM et de BSA. Les amplifications ont été effectuées avec les cycles thermiques suivants : dénaturation à 94° C pendant 2 min suivie de 20 cycles : 94°C pendant 30 s, 65°C pendant 30 s avec une diminution de la température d'hybridation de 0,5°C à chaque cycle (PCR 'Touchdown') suivie d'une élongation à 72°C pendant 1 min et de 10 cycles : 94°C pendant 30 s, 55°C pendant 30 s, 72°C pendant 1 min et d'une élongation finale à 72°C pendant 15 min.

II-6-2-2-Etude de la structure de la communauté fongique

Pour l'étude de la structure de la communauté fongique, la région ITS a été amplifiée par la méthode de la PCR emboîtée (*Nested PCR*). La première PCR utilise les amorces ITS1F et ITS4 décrites respectivement par Gardes et Bruns (1993) et White *et al.* (1990). Dans le mélange réactionnel de 25 µl, 1 µM de chaque amorce, la Taq polymérase Ready- to-go (PuRe taq™ Ready- to-go™) et 5 ng d'ADN ont été utilisés. L'amplification a été réalisée avec les cycles thermiques suivants: une dénaturation initiale à 95°C pendant 5 min, suivie de 30 cycles caractérisés par une dénaturation à 95°C pendant 30s, une hybridation à 55°C pendant 30s et d'une élongation à 72°C pendant 1 min. Le cycle thermique est terminé par une élongation finale à 72°C pendant 10 min. Ces produits d'amplification ont servi de matrice (dilués au 500^{ème}) pour la deuxième PCR. La deuxième amplification s'est effectuée avec les amorces ITS1F-GC et ITS2 décrites respectivement par Gardes et Bruns (1993) et White *et al.* (1990). Les conditions de la seconde PCR ont été identiques à celles de la première réaction d'amplification.

II-6-2-3 Etude de la structure des communautés nitrifiantes avec le gène CTO

Le gène CTO a été amplifié par la méthode de la PCR emboîtée. La première amplification cible la communauté bactérienne totale avec le couple d'amorces fd1/rd1 décrit par Weisburg *et al.* (1991) qui amplifie le gène 16S (1600 paires de bases). Le mélange réactionnel de 25 µl était composé de 5 ng d'ADN, 0,5 µM de chaque amorce et de la Taq polymérase Ready- to-go (PuRe taq™ Ready- to-go™). Les cycles thermiques suivants ont été appliqués : dénaturation à 94° C pendant 2 min suivie de 20 cycles à 94°C pendant 30 s, 55°C pendant 30 s et 72°C pendant 1 min et d'une élongation finale à 72°C pendant 15 min.

Les produits de la première PCR ont servi de matrice (dilués au 200^{ème}) pour la seconde PCR avec le couple d'amorces spécifiques : CTO189f-GC et CTO654r décrit par Kowalchuk *et al.* (1997) donnant des fragments d'environ 465 paires de bases avec les cycles thermiques suivants : dénaturation à 94° C pendant 2 min suivie de 20 cycles à 94°C pendant 30 s, 57°C pendant 30 s et 72°C pendant 1 min et d'une élongation finale à 72°C pendant 15 min.

II-6-2-4-Etude de la structure des communautés dénitrifiantes avec le gène NirK

La structure des communautés dénitrifiantes a été étudiée grâce au gène NirK, amplifié par le couple d'amorce R3Cu-GC et F1aCu décrit par Throbäck *et al.* (2004). Le mélange réactionnel de 25 µl était composé de 5 ng d'ADN, de 0,8 µM de chaque amorce et de la Taq polymérase Ready- to-go (PuRe taqTM Ready- to-goTM). Les cycles thermiques suivants ont été appliqués : dénaturation initiale à 94°C pendant 2 mn suivie de 10 cycles à 94°C pendant 30 s, 62°C pendant 30 s avec une diminution de la température d'hybridation de 0,5°C à chaque cycle (PCR 'Touchdown') et 72°C pendant 45 s suivie de 25 cycles : 94°C pendant 30 s, 57°C pendant 30 s, 72°C pendant 45 s et d'une élongation finale à 72°C pendant 15 min.

II-6-2-5-Etude de la structure des communautés diazotrophiques ou fixatrices d'azote.

La structure des communautés fixatrices d'azote atmosphérique ou diazotrophes a été étudiée en ciblant le gène nifH par une méthode de PCR emboîtée. La première amplification qui utilise le couple d'amorces FGPH19/PolR décrit par Poly *et al.* (2001) donne des amplifiats de 429pb. Pour chaque amorce 0,5 µM ont été utilisés et 0,5 µl de BSA dans le mélange réactionnel de 25 µl avec la Taq polymérase Ready- to-go (PuRe taqTM Ready- to-goTM). Les cycles thermiques suivants ont été appliqués : dénaturation à 94° C pendant 5 mn suivie de 10 cycles à 94°C pendant 1 mn, 55°C pendant 1 mn et 72°C pendant 2 mn et enfin d'une élongation finale à 72°C pendant 15 min. Les produits PCR ont servi de matrice (dilués au 100^{ème}) pour la seconde PCR. Cette seconde PCR utilise les amorces AQER/PolF (clampée d'une queue poly-GC) décrites respectivement par Simonet *et al.* (1991) et Poly *et al.* (2001) donnant des produits PCR de 320 pb. Le mélange réactionnel de 25 µl était composé de 5 ng d'ADN, 0,5 µM de chaque amorce et de la Taq polymérase Ready- to-go (PuRe taqTM Ready- to-goTM). Les amplifications ont été effectuées avec les cycles thermiques suivants : une dénaturation à 94° C pendant 5 mn suivie de 10 cycles à 94°C pendant 1 mn, 57°C pendant 1 mn, 72°C pendant 2 mn et d'une élongation finale à 72°C pendant 15 min.

Tableau 6 : Description des amorces utilisées dans les réactions de polymérisation en chaîne.

Amorces	Séquences	Gènes	Taille de l'amplifiât	Références
Queue poly GC ou GC-Clamp	5'- CGCCCGCCGCGCGCGGGCGGGCGGG GCGGGGGCACGGGGGG -3'			Muyzer <i>et al.</i> (1993)
338f-GC	5'-Clamp- CCTACGGGAGGCAGCAG - 3'	16S (V3)	220pb	Muyzer <i>et al.</i> (1993)
518r	5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3'			
ITS1 f	5'CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3'	ITS1, 5,8S, ITS2	650pb	Gardes et Bruns (1993)
ITS4	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'			White <i>et al.</i> (1990)
ITS1f-GC	5'-Clamp- CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3'	ITS1	350pb	Gardes et Bruns (1993)
ITS2	5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3'			White <i>et al.</i> (1990)
fd1	5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'	16S	1600pb	Weisburg <i>et al.</i> (1991)
rd1	5'- AAGCTTAAGGAGGTGATCCAGCC- 3'			
CTO189f-GC	5'-clamp- GGAGRAAAGYAGGGGATCG-3'	CTO	465pb	Kowalchuk <i>et al.</i> (1997)
CTO 654r	CTAGCYTTGTAGTTTCAAACG-3'			
R3Cu-GC	5'Clamp- GCCTCGATCAGRTTGTGGTT-3'	nirK	472 pb	Throbäck <i>et al.</i> (2004).
F1aCu	5'-ATCATGGTSCTGCCGCG-3'			

Amorces	Séquences	Gène	Taille de l'amplifiât	Référence
FGPH19	5'-TAC GGC AAR GGT GGN ATH G-3'	nifH	429pb	Poly <i>et al.</i> (2001)
PolR	5'-ATS GCC ATC ATY TCR CCG GA3'			
PolF-GC	5'-Clamp-GTG CGA YCC SAA RGC BGA CTC-3'	NifH	320pb	Poly <i>et al.</i> (2001)
AQER	5'-GAC GAT GTA GAT YTC CTG-3'			Simonet <i>et al.</i> (1991)

II-6-3-La migration sur gel à gradient dénaturant (DGGE)

Les produits PCR ont été séparés en utilisant une électrophorèse en gradient de dénaturation (DGGE) avec le même protocole utilisé dans le chapitre 2. Les gradients de dénaturation utilisés sont : 45-70% pour les gènes 16S (V3), CTO, nirK et nifH et 22-58% de dénaturant pour les champignons (ITS).

La structure des communautés microbiennes a été mise en évidence à travers l'analyse des gels DGGE à l'aide du logiciel d'analyse de gel Phoretix 1D v10. 2009. Les dendrogrammes de similarité ont été construits en utilisant la méthode de l'algorithme d'UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Algorithm). La diversité structurale des communautés microbiennes a été estimée en calculant l'indice de diversité de Shannon H pour chaque profil DGGE.

II-7-Analyses statistiques

Une ANOVA à un facteur a été réalisée pour comparer les variables chimiques et biologiques des sols des systèmes de culture de *Jatropha* en association avec le mil et de la culture de différentes provenances. Le test de Fisher à 95% a ensuite été réalisé pour classer les moyennes. Toutes les corrélations effectuées dans cette étude ont été réalisées avec le test de corrélation de Pearson à 95%. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées grâce au logiciel XLStat-Pro (2011.2.04 AddinSoft).

III-Résultats

III-1-Caractérisation des sols cultivés avec différentes provenances de *Jatropha*

III-1-1- Caractéristiques chimiques et biomasse microbienne des sols

Les caractéristiques chimiques des sols, la biomasse microbienne et la respiration basale sont reportées dans le tableau 7. Les sols cultivés avec les provenances Lompoul, Kamonghone, Fois 1 et Tanzanie de *Jatropha* ont présenté des teneurs en azote supérieures aux sols non cultivés alors que les provenances exotiques Inde et Mozambique n'ont pas entraîné statistiquement d'amélioration de ces caractéristiques. Les sols rhizosphériques de la provenance Lompoul avec ceux de Mozambique et de Kamonghone ont présenté les teneurs en phosphore les plus élevées ($p=0,001$). La culture de *Jatropha* (l'ensemble des provenances) a entraîné une augmentation du pH des sols ($p=0,007$) dans cette présente étude.

La teneur en phosphore a été positivement corrélée avec les teneurs en ammoniums ($p<0,05$; $R^2=0,74$) et en nitrates ($p<0,05$; $R^2=0,76$); cette teneur en nitrates a été corrélée positivement avec la teneur en ammoniums ($p<0,05$; $R^2=0,69$) et avec la biomasse microbienne ($p<0,05$; $R^2=0,75$).

Tableau 7 : Caractéristiques chimiques et biologiques des sols de la rhizosphère des différentes provenances de *Jatropha*.

Provenances	Azote total (g / kg)	Carbone total (g / kg)	C/ N	Phosphore (mg/kg)	NH₄⁺ (µg N g sol ⁻¹)	NO₃⁻ (µg N g sol ⁻¹)	Biomasse microbienne (µg C g sol ⁻¹)	Respiration basale (µg CO ₂ jour ⁻¹ g sol ⁻¹)	pHeau
LOMPOUL	0,47 c	5,27 b	11,244 a	159 cd	2,37 bc	7,85 d	10,39 b	39,279c	6,79 b
KAMOGHONE	0,35 bc	4,06 b	11,514 ab	117,5 bc	1,47 ab	1,87 ab	2,36 a	19,219b	6,87 b
FOIS 1	0,36 bc	4,20 b	11,772 ab	64 a	1,67 ab	2,00 ab	3,62 a	22,798b	6,77 b
TANZANIE	0,35 bc	4,09 b	11,592 ab	87,5 ab	2,2 abc	2,45 b	5,065 a	21,991b	6,55 b
INDE	0,32 ab	3,81 ab	11,790 ab	77 ab	1,367 ab	1,533 ab	3,82 a	17,105b	6,65 b
MOZAMBIQUE	0,30 ab	3,75 ab	12,176 ab	196 d	3,17 c	4,70c	4,55 a	19,039b	6,80 b
TEMOIN	0,20 a	2,41 a	12,275 b	46,333 a	1,200 a	0,60 a	2,170 a	9,588a	5,76 a
Pr > F	0,024	0,076	0,344	0,001	0,017	<0,0001	0,005	0,000	0,007
Significatif	Oui	Non	Non	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui	Oui

III-1-2-Les activités microbiennes

III-1-2-1-Respiration basale

Les activités respiratoires des sols cultivés avec les provenances Fois 1, Kamonghone, Lompoul, Inde, Mozambique et Tanzanie de *Jatropha curcas* L. et des sols non cultivés (témoin) sont représentées dans le tableau 7. Les sols rhizosphériques des différentes provenances de *Jatropha* ont eu des activités respiratoires significativement plus élevées que celles des sols non rhizosphériques. Les sols rhizosphériques de la provenance Lompoul ont présenté les activités les plus élevées ($39,28 \mu\text{g CO}_2 \text{ jour}^{-1} \text{ g sol}^{-1}$). Alors que les sols sous culture des autres provenances n'ont pas eu d'activités respiratoires rhizosphériques différentes.

III-1-2-2-Activité enzymatique

Les mesures des activités enzymatiques ont montré que celles de la bêta-glucosidase et de la phosphatase acide (Tableau 8) ont été significativement plus élevées dans les sols rhizosphériques que dans les sols non rhizosphériques ($p < 0,05$). Cependant, les activités enzymatiques de l'uréase des sols rhizosphériques des provenances Fois 1 et Mozambique ont été plus faibles que celles des sols témoins ($p < 0,05$). Ces sols témoins ont eu des activités enzymatiques de l'uréase qui n'ont pas été significativement différentes de celles des sols rhizosphériques des provenances Kamonghone, Inde et Tanzanie. Les sols rhizosphériques de la provenance Lompoul de *Jatropha* ont eu les activités enzymatiques de la bêta-glu, de la phosphatase acide et de l'uréase les plus élevées ($55,38 \mu\text{g p-NP g(sol)}^{-1}\text{h}^{-1}$, $47,22 \mu\text{g p-NP g(sol)}^{-1}\text{h}^{-1}$ et $194,319 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ respectivement).

L'activité enzymatique de la bêta-glucosidase a été corrélée positivement avec la teneur en azote du sol ($p < 0,0001$; $R^2 = 0,98$), avec la teneur en carbone ($p < 0,0001$; $R^2 = 0,98$), avec la biomasse microbienne ($p < 0,05$; $R^2 = 0,69$) et à l'activité de la phosphatase acide ($p < 0,01$; $R^2 = 0,84$). Cette activité de la bêta-glucosidase a été négativement corrélée avec le rapport C/N ($p < 0,05$; $R^2 = 0,8$). L'activité enzymatique de la phosphatase acide des sols a également été corrélée positivement avec la teneur en azote ($p < 0,05$; $R^2 = 0,75$), avec la teneur en carbone ($p < 0,01$; $R^2 = 0,82$), avec la biomasse microbienne ($p < 0,01$; $R^2 = 0,85$), mais aussi avec les teneurs en nitrates ($p < 0,05$; $R^2 = 0,67$).

Tableau 8 : Activités enzymatiques de la Béta-glucosidase, de la Phosphatase acide et de l'Uréase de la rhizosphère des différentes provenances de *Jatropha*.

Origine	Béta-Glucosidase ($\mu\text{g p-PN g(sol)}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	Phosphatase acide ($\mu\text{g p-PN g(sol)}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	Uréase ($\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$)
LOMPOUL	55,380 c	47,225 d	194,319 c
KAMONGHONE	31,067 b	25,785 b	107,423 b
FOIS 1	30,440 b	25,599 b	47,006 a
TANZANIE	35,356 b	37,646 c	117,060 b
INDE	28,699 b	28,292 b	103,933 b
MOZAMBIQUE	25,642 b	30,373 bc	37,468 a
TEMOIN	4,923 a	17,663 a	124,475 b
Pr > F	0,000	0,000	0,000
Significatif	Oui	Oui	Oui

III-1-3-Structure des communautés microbiennes

III-1-3-1-Structure de la communauté bactérienne totale

Le dendrogramme de similarité issu de l'analyse du gel DGGE a montré que les sols non rhizosphériques se séparaient nettement des sols rhizosphériques avec environ 33% de différence (Figure 14). De plus, la diversité de Shannon de la communauté bactérienne totale (Tableau 9) a été plus élevée dans les sols rhizosphériques à l'exception de celui de la provenance Mozambique. Cependant, les communautés bactériennes des sols rhizosphériques n'ont pas été structurées en fonction des provenances des plantes de *Jatropha*. Cette diversité de Shannon de la communauté bactérienne totale était positivement corrélée avec le pH des sols ($p < 0,05$; $R^2 = 0,65$).

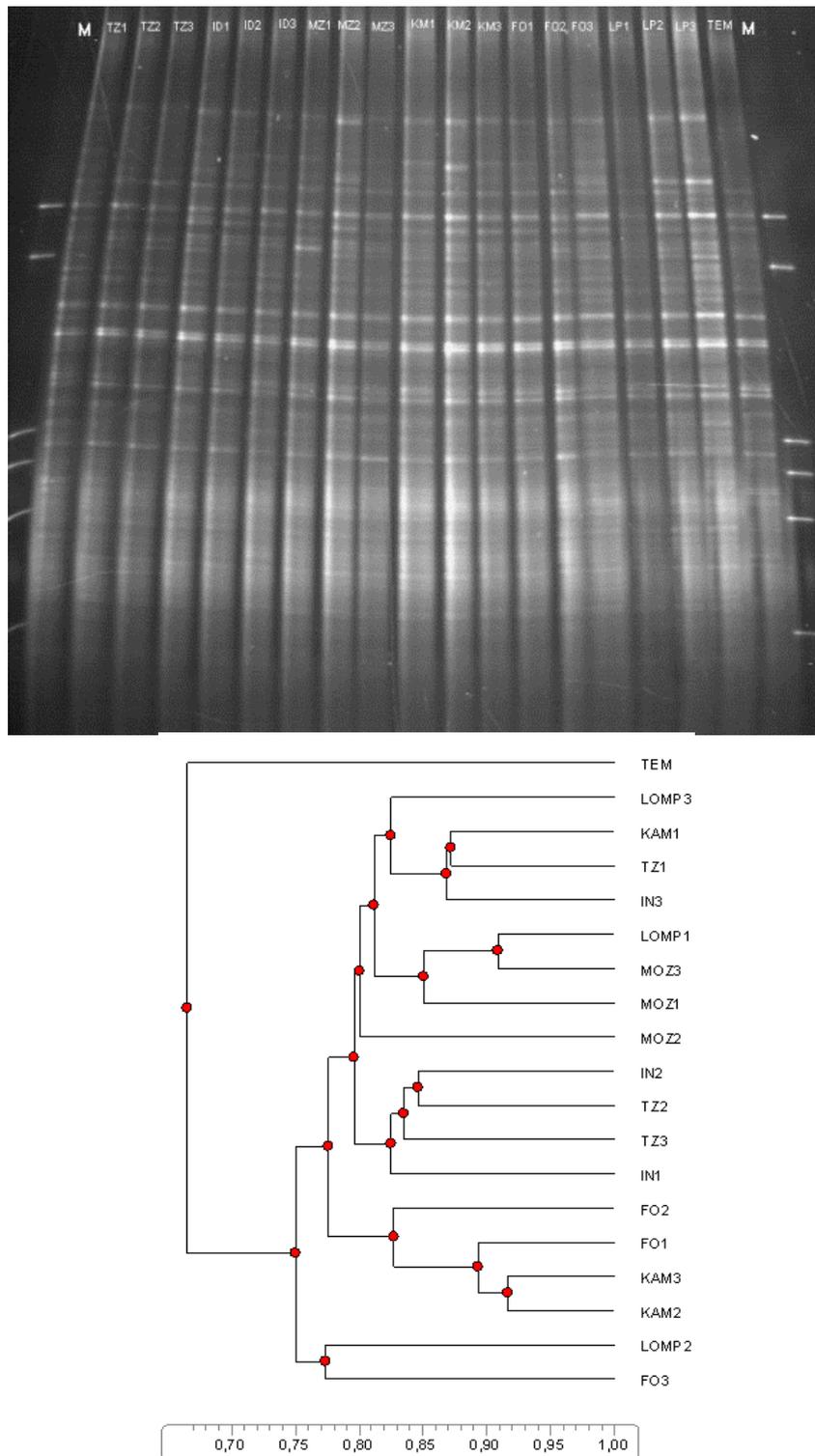


Figure 14 : Gel DGGE (haut) et dendrogramme de similarité (bas) des communautés bactériennes de la rhizosphère de *Jatropha* des différentes provenances (IN : Inde, TZ : Tanzanie, MOZ : Mozambique, FO : Fois 1, KAM : Kamonghone, LOMP : Lompoul, TEM : Témoin).

III-1-3-2-Structure de la communauté fongique

La diversité de Shannon de la communauté fongique (Tableau 9) a été statistiquement la même dans tous les sols (rhizosphériques et non rhizosphériques) à l'exception des sols rhizosphériques de la provenance Tanzanie qui a montré une diversité supérieure à celle du sol témoin (non rhizosphérique). Le dendrogramme (Figure 15) nous a montré que les sols provenant de la rhizosphère des différentes provenances de *Jatropha* et le sol non rhizosphérique ont eu environ 43% de dissimilarité. Les provenances Tanzanie et Inde ont montré des regroupements nets, les provenances Mozambique et Lompoul ont été regroupées à 2/3 et il n'y a pas eu de regroupement possible avec les provenances Fois1 et Kamonghone.

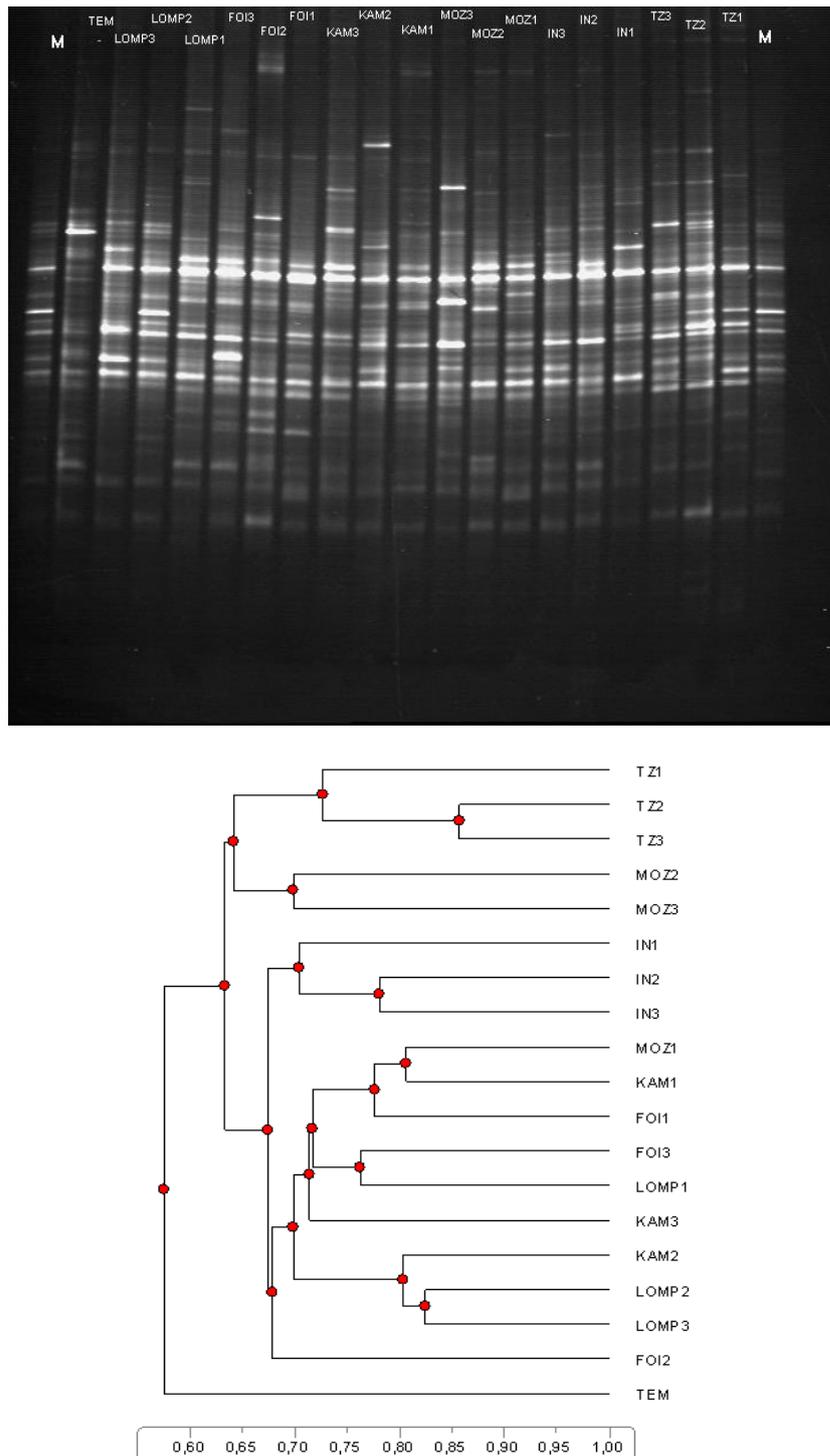


Figure 15 : Gel DGGE (haut) et dendrogramme de similarité (bas) des communautés fongiques de la rhizosphère de *Jatropha* des différentes provenances (IN : Inde, TZ : Tanzanie, MOZ : Mozambique, FO : Fois 1, KAM: Kamonghone, LOMP : Lompoul, TEM : Témoin).

III-1-3-3-Structure des communautés bactériennes associées au cycle de l'azote : CTO, NirK et NifH

Les dendrogrammes de similarité issus de l'analyse des communautés nitrifiantes et fixatrices d'azote respectivement représentés par les figures 16 et 18, ont montré que les bactéries nitrifiantes et fixatrices d'azote n'étaient structurées ni en fonction des types de sols (rhizosphériques et non rhizosphériques) ni en fonction des provenances des plantes de *Jatropha*. Les communautés bactériennes nitrifiantes ont eu des diversités plus élevées dans les sols rhizosphériques des provenances Lompoul, Fois 1 et Inde, cependant, les autres sols rhizosphériques présentaient des diversités de cette communauté qui ont été statistiquement identiques à celles des sols témoins. Les diversités de Shannon des communautés bactériennes fixatrices d'azote n'ont pas été significativement différentes entre sols rhizosphériques (de toutes les provenances) et non rhizosphériques (Tableau 9).

L'analyse de la structure des communautés dénitrifiantes associées à la rhizosphère de différentes provenances de *Jatropha* nous a montré que les sols rhizosphériques et non rhizosphériques ont eu environ 45% de dissimilarité (Figure 17). La diversité de Shannon des communautés dénitrifiantes a été plus élevée dans les sols cultivés avec *Jatropha* que dans les sols non cultivés ($p < 0,0001$ avec Fois 1, Lompoul, Tanzanie et Inde et $p < 0,01$ avec Kamonghone et Mozambique ; Tableau 9).

La diversité de Shannon des communautés bactériennes nitrifiantes (CTO) a positivement été corrélée avec celles de la communauté bactérienne totale ($p < 0,05$; $R^2 = 0,6$) et de la communauté bactérienne dénitrifiante ($p < 0,05$; $R^2 = 0,57$). Cette diversité des bactéries nitrifiantes a également été corrélée positivement avec les teneurs en azote ($p < 0,05$; $R^2 = 0,68$) et en carbone ($p < 0,05$; $R^2 = 0,69$) et avec l'activité enzymatique de la bêta-glu ($p < 0,05$; $R^2 = 0,62$), mais corrélée négativement avec le rapport C/N ($p < 0,05$; $R^2 = 0,65$) des sols.

La diversité de Shannon des communautés dénitrifiantes (NirK) a été positivement corrélée avec : la teneur en carbone ($p = 0,04$; $R^2 = 0,6$), la teneur en azote ($p < 0,05$; $R^2 = 0,62$), le pH du sol ($p < 0,01$; $R^2 = 0,79$), l'activité de la bêta-glu ($p < 0,05$; $R^2 = 0,61$) et avec la diversité de Shannon de la communauté bactérienne totale ($p < 0,01$; $R^2 = 0,91$). La diversité de la communauté diazotrophique, quant à elle, a été positivement corrélée avec l'activité enzymatique de l'uréase ($p < 0,05$; $R^2 = 0,74$).

Tableau 9 : Diversité de Shannon des communautés bactériennes totales et communautés bactériennes impliquées dans le cycle de l'azote (nitrifiantes, dénitrifiantes et diazotrophiques) ainsi que celle des communautés fongiques.

Provenances	CTO	NirK	NifH	ITS	16S
LOMPOUL	2,948 b	3,047 bc	2,930 a	3,259 ab	3,532 bc
KAMONGHONE	2,759 ab	2,933 bc	2,796 a	3,314 ab	3,552 bc
FOIS 1	2,866 b	3,093 c	2,737 a	3,198 a	3,610 c
TANZANIE	2,735 ab	3,055 bc	2,908 a	3,351 b	3,572 bc
INDE	2,883 b	3,050 bc	2,851 a	3,237 ab	3,586 bc
MOZAMBIQUE	2,605 a	2,909 b	2,615 a	3,269 ab	3,465 ab
TEMOIN	2,556 a	2,341 a	2,919 a	3,186 a	3,309 a
Pr > F	0,026	0,000	0,427	0,217	0,064
Significatif	Oui	Oui	Non	Non	Non

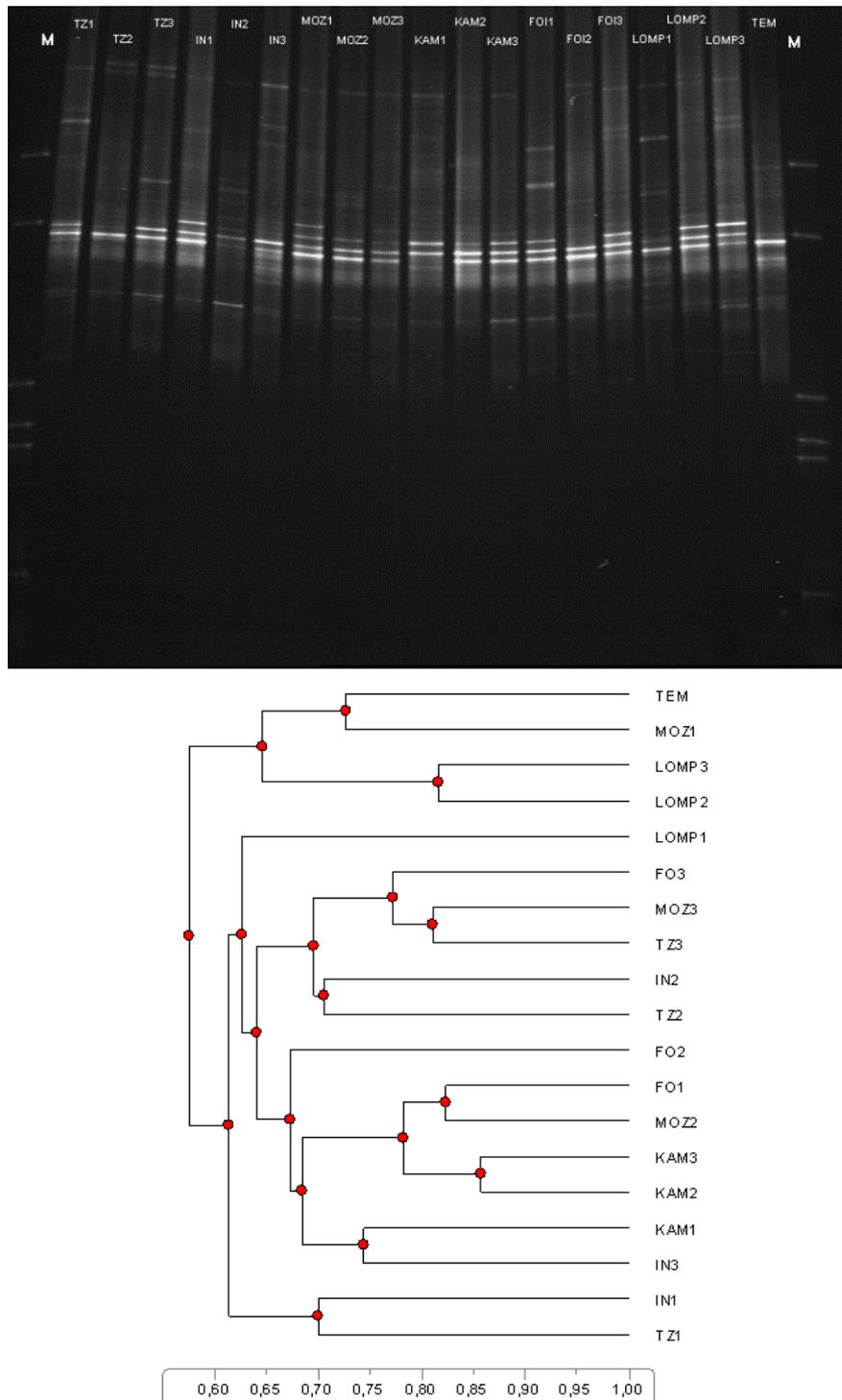


Figure 16 : Gel DGGE (haut) et dendrogramme de similarité (bas) des communautés bactériennes nitrifiantes de la rhizosphère de *Jatropha* des différentes provenances (IN: Inde, TZ: Tanzanie, MOZ: Mozambique, FO : Fois 1, KAM : Kamonghone, LOMP : Lompoul, TEM : Témoin).

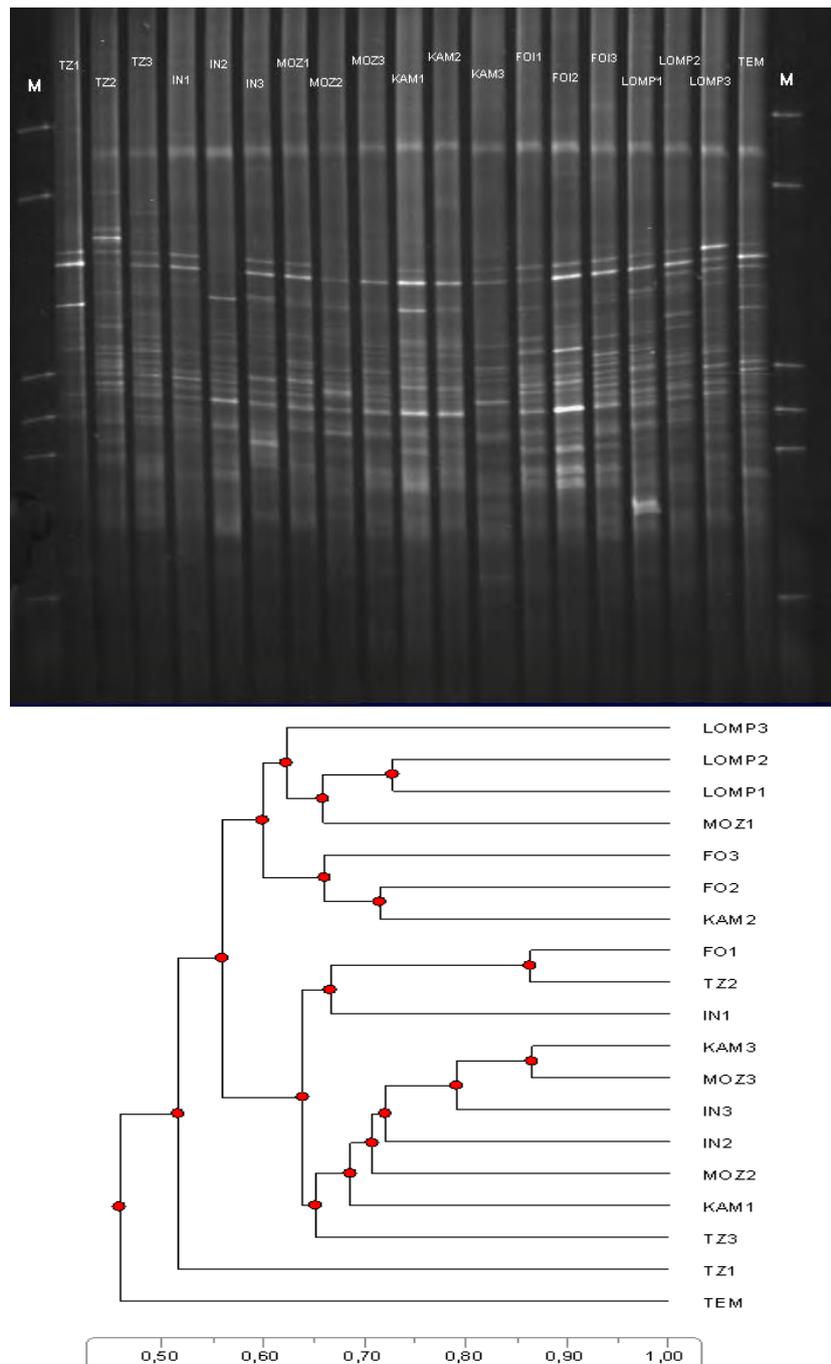


Figure 17 : Gel DGGE (haut) et dendrogramme de similarité (bas) des communautés bactériennes dénitrifiantes de la rhizosphère de *Jatropha* des différents provenances (IN: Inde, TZ: Tanzanie, MOZ: Mozambique, FO : Fois 1, KAM: Kamonghone, LOMP : Lompoul, TEM : Témoin).

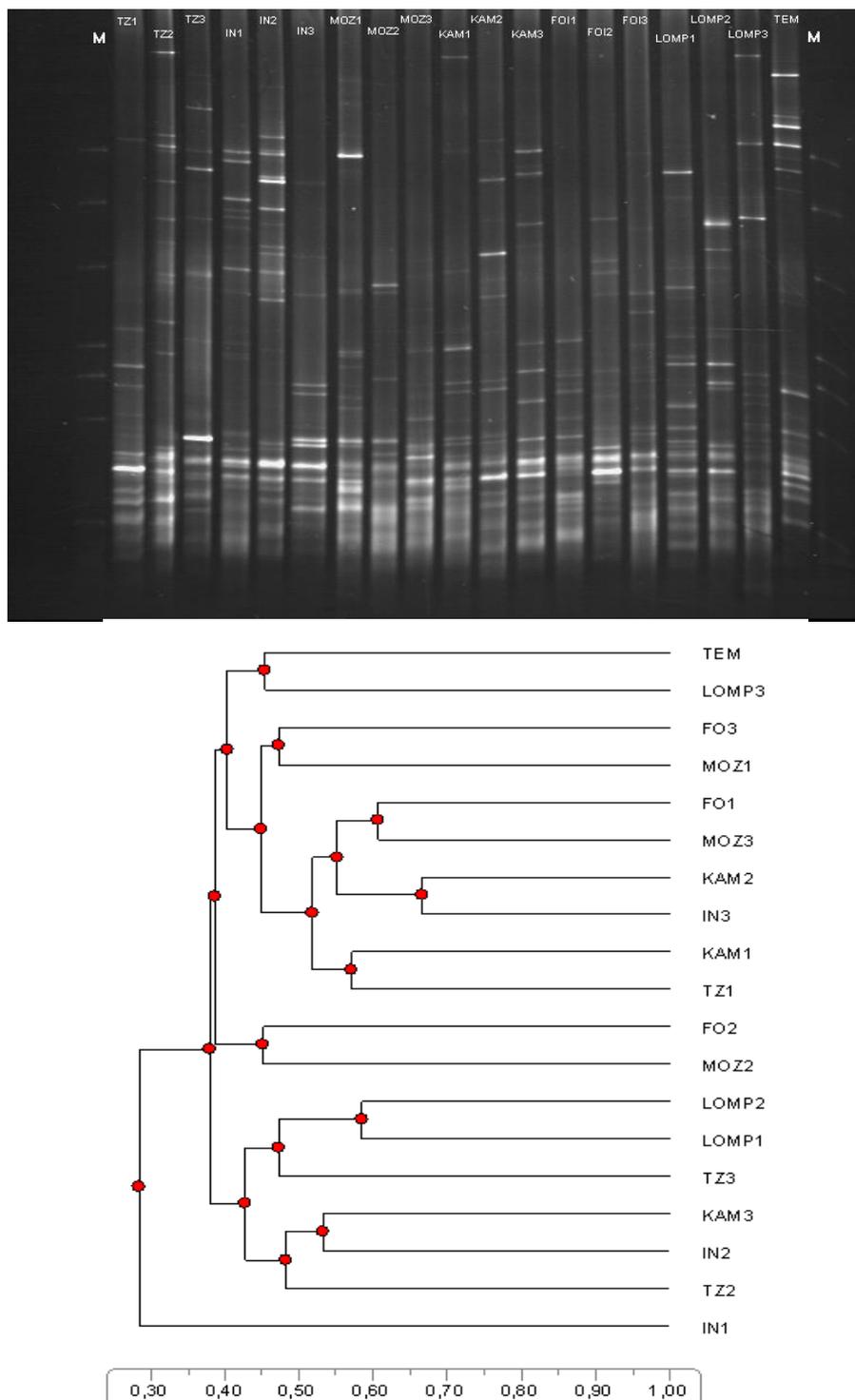


Figure 18 : Gel DGGE (haut) et dendrogramme de similarité (bas) des communautés bactériennes fixatrices d’azote de la rhizosphère de *Jatropha* des différentes provenances (IN: Inde, TZ : Tanzanie, MOZ : Mozambique, FO : Fois 1, KAM : Kamonghone, LOMP : Lompoul, TEM : Témoin).

III-2-Influence de l'association de la culture de *Jatropha* avec celle du mil sur les caractéristiques des sols

III-2-1-Caractéristiques chimiques des sols

Les caractéristiques chimiques des sols sont reportées dans le tableau 10. Les teneurs en carbone ainsi que les teneurs en azote ont été significativement différentes entre les sols des systèmes de culture pure de *Jatropha* et les sols témoins et non significativement différentes entre les sols rhizosphériques de *Jatropha* en association avec le mil et ceux du mil ($p < 0,05$). Les systèmes de culture n'ont pas eu d'effet significatif sur le rapport C/N des sols. La teneur en azote a été positivement corrélée à la teneur en carbone ($p < 0,01$; $R^2 = 0,98$) et le pH du sol a été positivement corrélé à la teneur en NO_3^- ($p < 0,05$; $R^2 = 0,92$).

III-2-2-Activité microbienne

III-2-2-1-Respiration basale

La culture du mil, l'association de la culture de *Jatropha* avec celle du mil et la culture pure de *Jatropha* ont entraîné une augmentation de l'activité respiratoire des communautés microbiennes des sols avec des activités significativement supérieures à celles des sols non cultivés (Tableau 10). Nos résultats ont également montré que l'association de la culture de *Jatropha* avec celle du mil a contribué à une légère augmentation de l'activité respiratoire microbienne des sols rhizosphériques de *Jatropha* (non significative). En effet, l'activité respiratoire des sols rhizosphériques de *Jatropha* est passée de $18,52 \mu\text{g CO}_2 \text{ jour}^{-1} \text{ g sol}^{-1}$ avec la culture pure de *Jatropha* à $19,95 \mu\text{g CO}_2 \text{ jour}^{-1} \text{ g sol}^{-1}$ avec la culture associée *Jatropha*-mil.

Tableau 10 : Caractéristiques chimiques et biologiques des différents systèmes de culture (JAP culture pure de *Jatropha*, JAM : culture de *Jatropha* associé avec du mil, MIL : culture de mil).

CULTURE	Azote total (g / kg)	Carbone total (g / kg)	C / N	C org (g / kg)	pH eau	NH ₄ ⁺ (µg N/g)	NO ₃ ⁻ (µg N/g)	Respiration basale (µg CO ₂ jour ⁻¹ g sol ⁻¹)
JATROPHA	0,35 b	4,26 b	12,053 a	3,684 b	6,657 bc	2,300 b	1,400 b	18,526b
JATROPHA-MIL	0,28 ab	3,17 a	11,557 a	2,996 b	6,770 c	2,733 b	1,200 b	19,953bc
MIL	0,29 ab	3,30 ab	11,379 a	2,993 b	6,180 ab	2,300 b	0,300 a	23,980c
TEMOIN	0,20 a	2,41 a	12,275 a	2,246 a	5,760 a	1,200 a	0,600 a	9,588a
Pr > F	0,014	0,014	0,214	0,004	0,010	0,054	0,001	0,011
Significatif	Oui	Oui	Non	Oui	Oui	Non	Oui	Oui

III-2-2-2-Activité enzymatique

Les mesures de l'activité enzymatique (Figure 19) nous a montré que les sols cultivés avec le mil ont eu des activités enzymatiques de l'uréase ($267,66 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g(sol)}^{-1} \text{h}^{-1}$), de la phosphatase acide ($41,59 \mu\text{g p-NP g(sol)}^{-1} \text{h}^{-1}$) et de la béta-glucosidase ($35,06 \mu\text{g p-NP g(sol)}^{-1} \text{h}^{-1}$) plus élevées que celles des sols cultivés avec *Jatropha* en culture pure ou en association avec du mil ainsi que celles des sols non cultivés ($p < 0,05$).

La culture pure de *Jatropha* et l'association *Jatropha*-mil ont eu un impact positif sur l'activité de la béta-glu, en effet, les sols rhizosphériques de la culture de *Jatropha* (pure ou en association avec le mil) ont eu des activités de la béta-glu significativement différentes des sols non cultivés ($p < 0,05$). L'activité enzymatique de la phosphatase des sols rhizosphériques de *Jatropha* en culture pure a été significativement différente de celle du sol témoin. Les activités enzymatiques de l'uréase ont été plus élevées ($p < 0,05$) dans les sols témoins ($124,47 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{sol h}^{-1}$) que dans les sols rhizosphériques de JAP ($59,06 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{sol h}^{-1}$) et JAM ($88,69 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{sol h}^{-1}$) qui n'ont pas été significativement différentes.

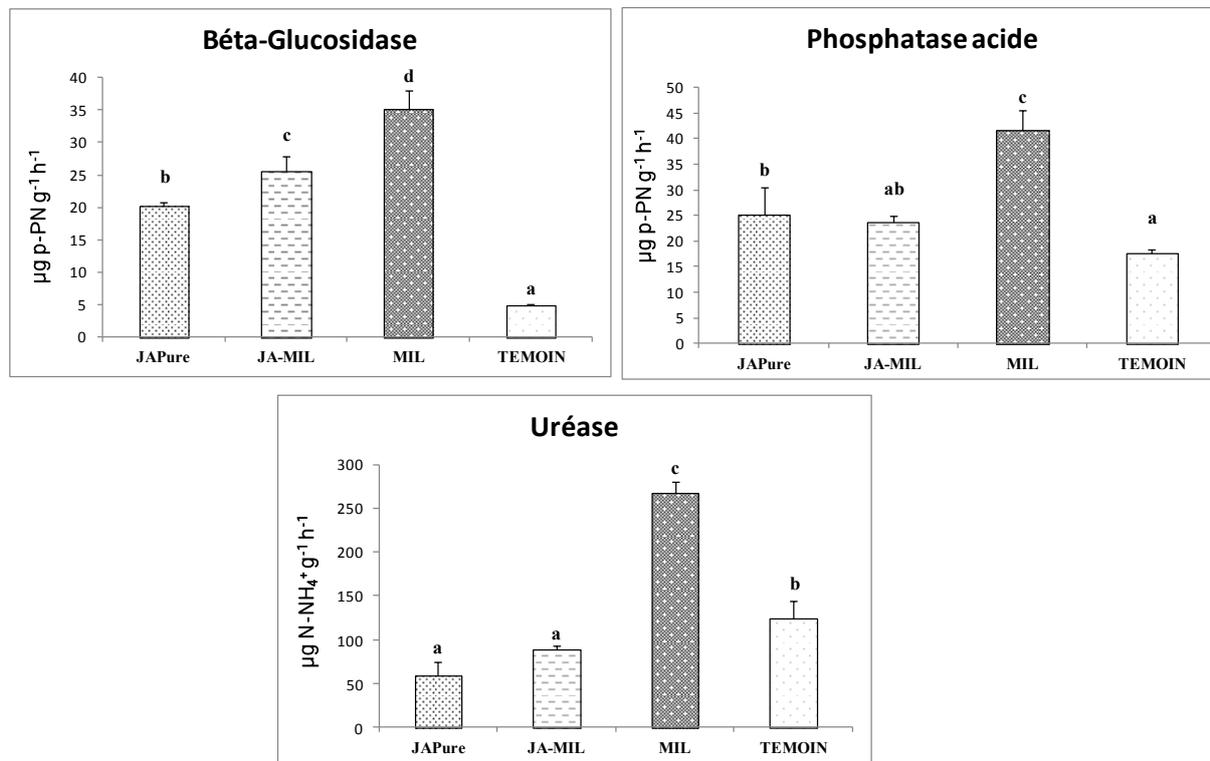


Figure 19 : Activités enzymatiques de la bêta-glucosidase, de la Phosphatase acide et de l'Uréease des sols rhizosphériques des plantes et du témoin (JAPure= culture pure de Jatropha, JA-MIL= Jatropha en association avec le mil, MIL=culture pure de mil).

III-2-3-Structure des communautés bactériennes impliquées dans le cycle de l'azote

III-2-3-1-Structure des communautés nitrifiantes

Le dendrogramme de similarité UPGMA de l'analyse du gel DGGE des communautés nitrifiantes (Figure 20) a donné deux clusters avec environ 50% de similarité. Le premier a été subdivisé en deux sous-clusters (A et B) qui ont eu 55% de similarité : le sous cluster A a été constitué des profils des communautés nitrifiantes de la rhizosphère du mil et du sol témoin qui ont eu des diversités de Shannon statistiquement identiques (Figure 21). Le sous-cluster B a été constitué des communautés nitrifiantes associées à la culture pure de Jatropha. Le cluster II était constitué des communautés nitrifiantes des sols rhizosphériques des plantes de Jatropha cultivées en association avec la culture de mil.

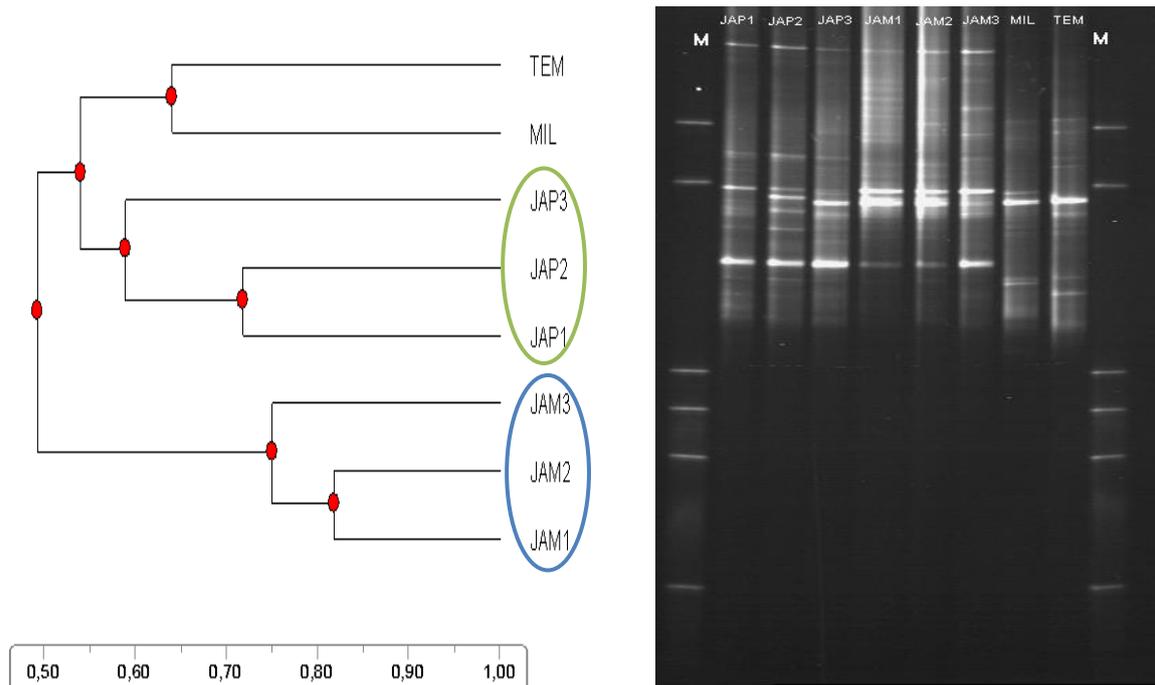


Figure 20 : Gel DGGE (droite) et dendrogramme de similarité (gauche) des communautés nitrifiantes de la rhizosphère de *Jatropha* des différents systèmes de culture (JAP=culture pure de *Jatropha*, JAM=*Jatropha* en association avec le mil), celle du mil (MIL) et du témoin non cultivé (TEM).

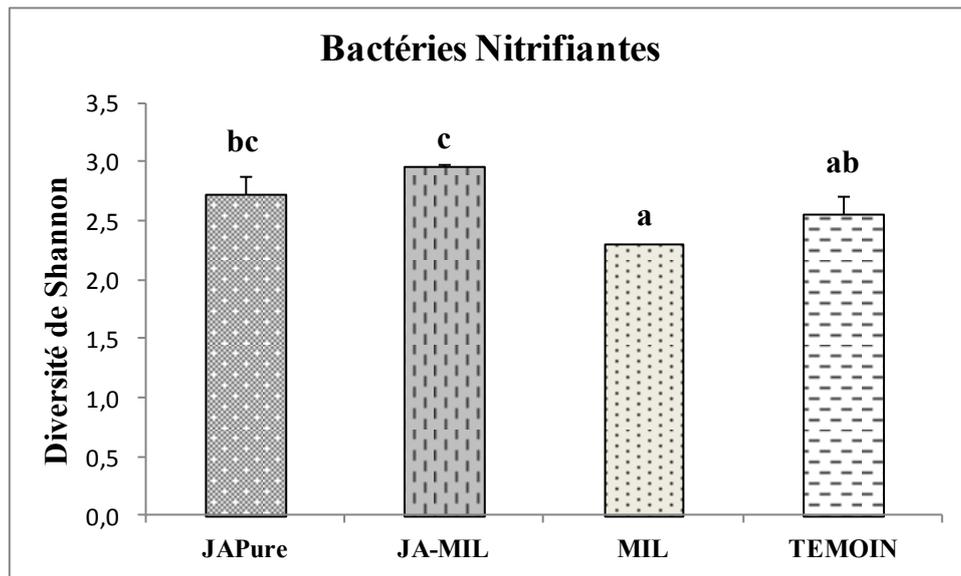


Figure 21 : Diversité de Shannon des communautés bactériennes nitrifiantes de la rhizosphère de *Jatropha* des différents systèmes de culture (JAPure=culture pure de *Jatropha*, JA-MIL=*Jatropha* en association avec le mil), celle du mil (MIL) et du témoin non cultivé.

III-2-3-2-Structure des communautés dénitrifiantes

Les sols rhizosphériques des plantes de *Jatropha* du système de culture JAM ont eu une diversité de Shannon des communautés bactériennes dénitrifiantes (3,34) significativement la plus élevée ($p < 0,05$), suivie de celle de JAP (3,10). Notre étude n'a pas montré de différences significatives entre les diversités de Shannon des communautés dénitrifiantes du sol témoin (non rhizosphérique) et de la rhizosphère du mil qui ont eu les valeurs les plus faibles (Figure 22). Le dendrogramme de similarité (Figure 23) a montré une séparation, dans le cluster I, entre les communautés dénitrifiantes du sol témoin et de celles de la rhizosphère du mil ; alors que celles des cultures pures de *Jatropha* (sous cluster B) et association *Jatropha*-mil (sous cluster A) ont été regroupées dans le cluster II. Les clusters I et II ont eu environ 60% de dissimilarité et les sous-clusters A et B environ 30% de dissimilarité.

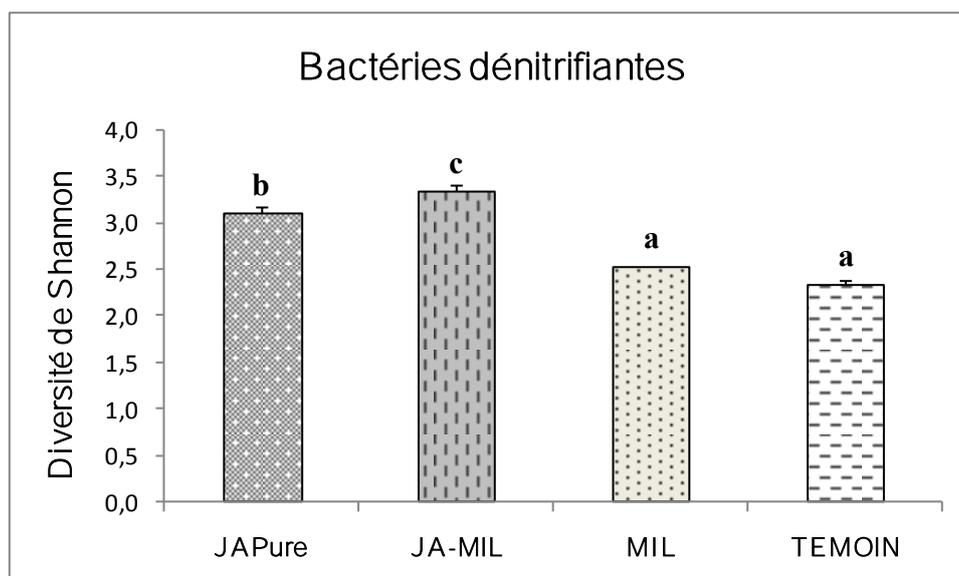


Figure 22 : Diversité de Shannon des communautés bactériennes dénitrifiantes de la rhizosphère de *Jatropha* des différents systèmes de culture (JAPure=culture pure de *Jatropha*, JA-MIL=*Jatropha* en association avec le mil), celle du mil (MIL) et du témoin non cultivé.

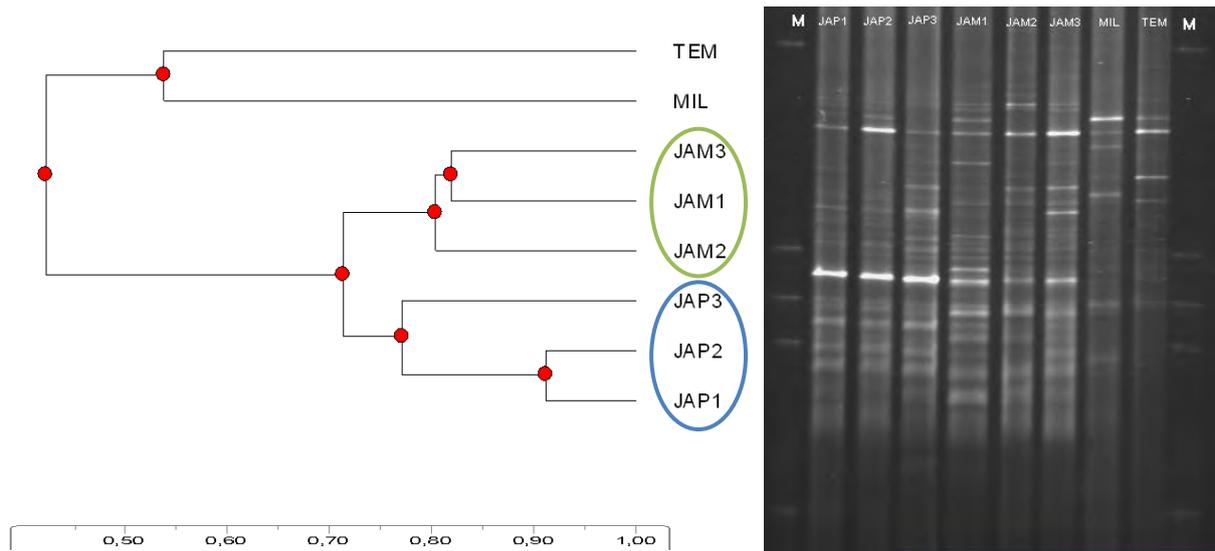


Figure 23 : Gel DGGE (droite) et dendrogramme de similarité (gauche) des communautés dénitrifiantes de la rhizosphère de *Jatropha* des différents systèmes de culture (JAP=culture pure de *Jatropha*, JAM=*Jatropha* en association avec le mil), celle du mil (MIL) et du témoin non cultivé (TEM).

III-2-3-3-Structure des communautés fixatrices d'azote (diazotrophiques)

Les tests de comparaisons n'ont montré aucune différence significative entre les diversités de Shannon des communautés fixatrices d'azote des systèmes JAP, JAM, mil et des sols témoins (Figure 24). Cependant, le dendrogramme de similarité présence-absence des profils DGGE des communautés diazotrophiques (Figure 25) a montré deux clusters distincts ayant environ 61% de dissimilarité. Le premier cluster a été composé des profils DGGE des bactéries diazotrophiques de la rhizosphère du mil et du sol témoin qui ont eu 58% de dissimilarité. Le deuxième cluster a été constitué des sols rhizosphériques de *Jatropha* en culture pure et en association avec le mil.

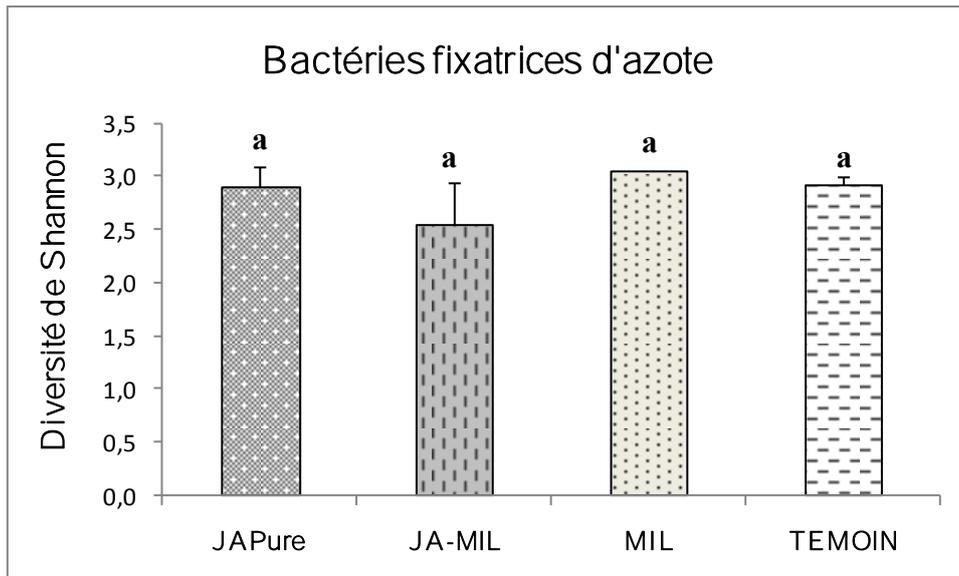


Figure 24 : Diversité de Shannon des communautés bactériennes fixatrices d'azote (Diazotrophiques) de la rhizosphère de *Jatropha* des différents systèmes de culture (JAPure=culture pure de *Jatropha*, JA-MIL=*Jatropha* en association avec le mil), celle du mil (MIL) et du témoin non cultivé.

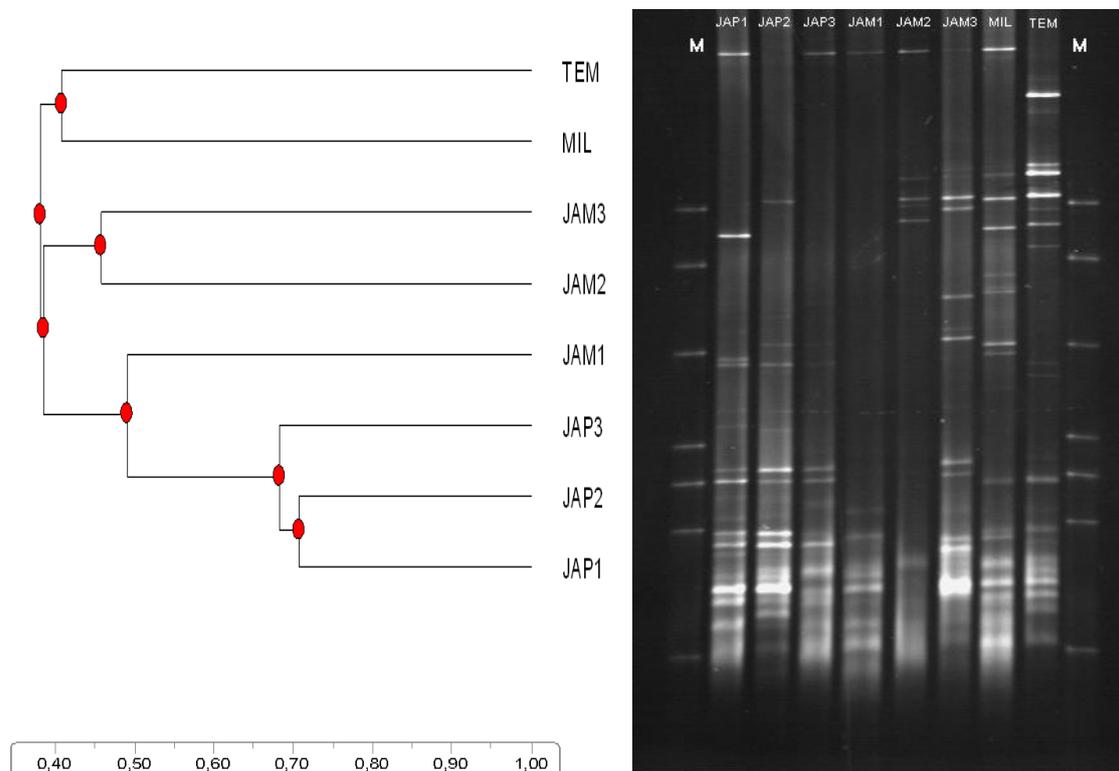


Figure 25 : Gel DGGE (droite) et dendrogramme de similarité (gauche) des communautés fixatrice d'azote de la rhizosphère de *Jatropha* des différents systèmes de culture (JAP=culture pure de *Jatropha*, JAM=*Jatropha* en association avec le mil), celle du mil (MIL) et du témoin non cultivé (TEM).

III-2-3-4-Structure de la communauté fongique

La diversité de Shannon de la communauté fongique a été positivement corrélée avec le pH du sol ($p < 0,05$; $R^2 = 0,95$). Cette diversité des champignons a également été corrélée positivement avec celle des communautés dénitrifiantes ($p < 0,05$; $R^2 = 0,96$). Les diversités de Shannon des communautés fongiques comme celles des communautés fixatrices d'azote n'ont montré aucune différence significative entre les systèmes de culture (Figure 26). Cependant, le dendrogramme de similarité présence-absence des profils DGGE des champignons (Figure 27) a montré deux clusters distincts ayant environ 42% de dissimilarité. Le premier cluster a été constitué des profils DGGE des communautés fongiques de la rhizosphère du mil et du sol témoin qui ont eu environ 38% de dissimilarité. Le deuxième cluster a été composé des sols rhizosphériques de *Jatropha* en culture pure et en association avec le mil.

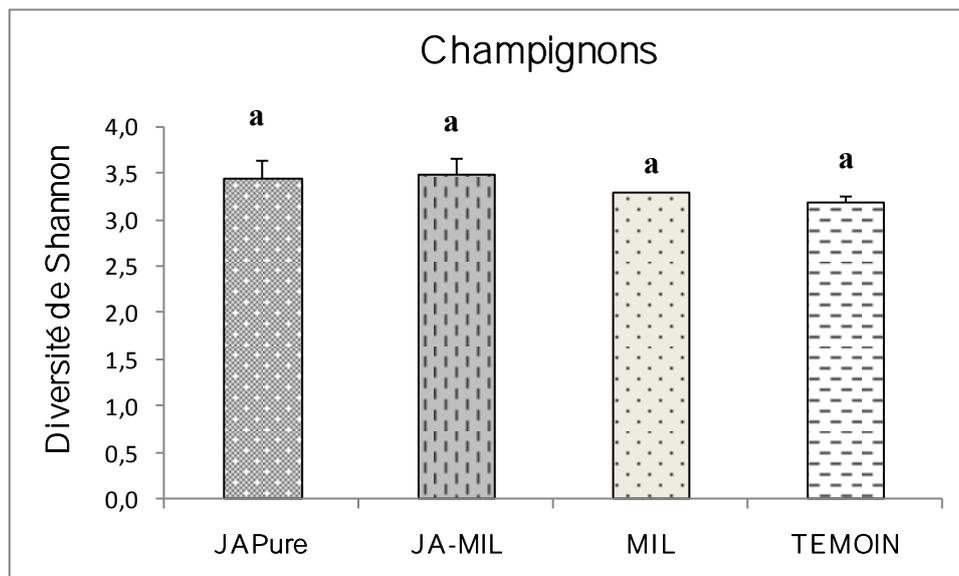


Figure 26 : Diversité de Shannon des communautés fongiques de la rhizosphère de *Jatropha* des différents systèmes de culture (JAPure=culture pure de *Jatropha*, JA-MIL=*Jatropha* en association avec le mil), celle du mil (MIL) et du témoin non cultivé.

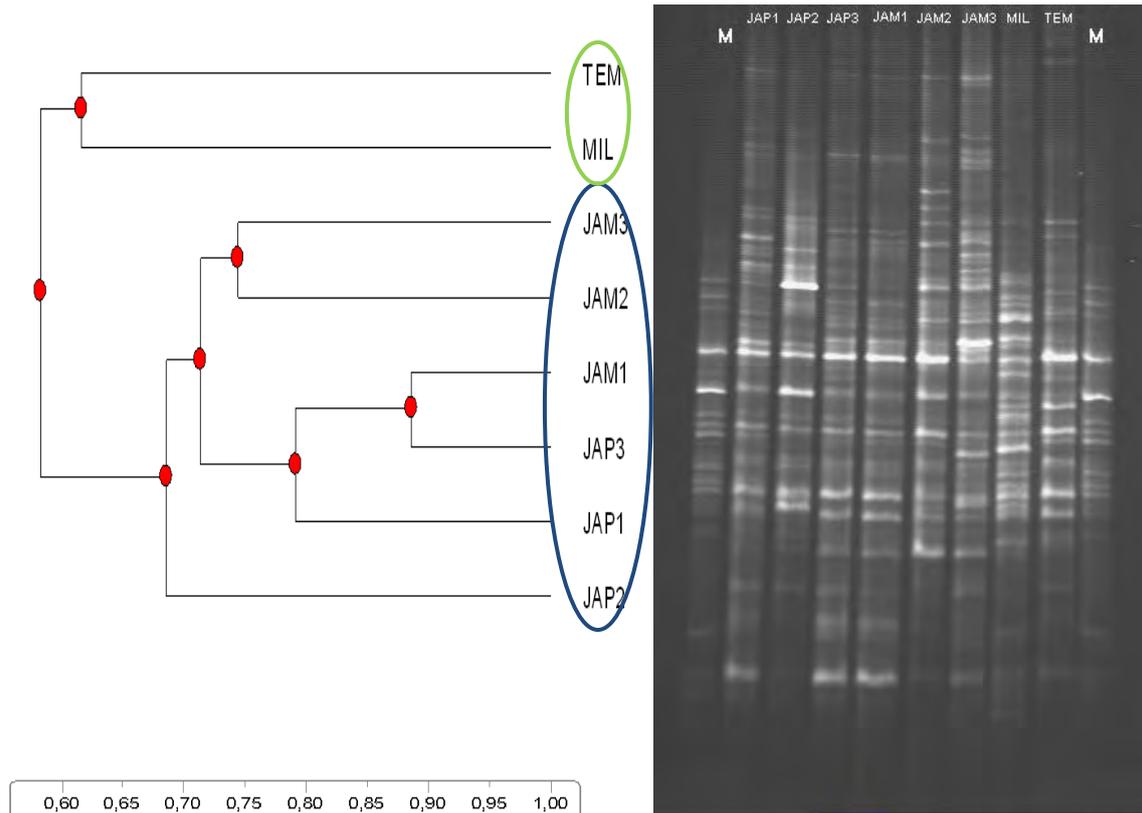


Figure 27 : Gel DGGE (droite) et dendrogramme de similarité (gauche) des communautés fongiques de la rhizosphère de *Jatropha* des différents systèmes de culture (JAP=culture pure de *Jatropha*, JAM=*Jatropha* en association avec le mil), celle du mil (MIL) et du témoin non cultivé (TEM).

IV-Discussion

IV-1-Influence des différentes provenances de *Jatropha* sur les sols

IV-1-1-Composition chimique des sols

Les teneurs en azote des sols augmentent avec la culture des provenances Lompoul, Kamonghone, Fois 1 et Tanzanie de *Jatropha*. La rhizosphère est ainsi caractérisée par une grande disponibilité de l'azote comparée au sol non rhizosphérique (Koranda *et al.*, 2011). Les sols rhizosphériques de la provenance Lompoul montrent globalement les teneurs en azote les plus élevées ; ceci serait dû au fait que cette provenance présentait globalement les performances agronomiques les plus élevées comparée aux autres provenances (Tableau 5). La provenance Mozambique se distingue également avec une meilleure amélioration des teneurs en phosphore. Quelle que soit la provenance, la culture de *Jatropha* n'a pas d'impact négatif sur les sols. L'âge des plantations pourrait expliquer l'absence d'impacts de certaines provenances, en effet, ce sont des plantations jeunes (24 mois après transplantation au champ). Ainsi, ces

jeunes plants de *Jatropha* ne permettraient pas foncièrement l'amélioration de la qualité des sols ; de plus, l'accumulation de biomasse végétale de cette plante plafonne à 5 ans (I. Dièdhiou, communication personnelle, 12 Mars 2014).

Toutes les provenances de *Jatropha* ont entraîné une augmentation du pH des sols. Cependant, les études de Singh *et al.* (2013) sur la capacité de réhabilitation des sols salés de *Jatropha* montrent une diminution du pH avec la culture de cette plante. L'exsudation racinaire peut ainsi modifier considérablement le pH des sols rhizosphériques (Hartmann *et al.*, 2008).

IV-1-2-Biomasse et activité microbienne

Notre étude semble identifier une provenance locale de *Jatropha* au Sénégal (Lompoul) qui entraîne une augmentation de la biomasse microbienne des sols. Plusieurs travaux (Singh *et al.*, 2013 ; Srivastava *et al.*, 2014) avaient montré une augmentation de la biomasse microbienne du sol par la culture de *Jatropha*. Ceci pourrait être attribué à la sécrétion dans la rhizosphère, par la plante de composés bénéfiques à la croissance des communautés microbiennes (Srivastava *et al.*, 2014). Herman *et al.* (2006) attribuent l'augmentation des communautés microbiennes au stock d'azote labile dans la rhizosphère.

Dans cette présente étude, l'activité enzymatique de la bêta-glucosidase est corrélée positivement avec la teneur en carbone des sols ; une même tendance a été observée dans plusieurs études (Lagomarsino *et al.*, 2009 ; Moscatelli *et al.*, 2012 ; Chaudhary *et al.*, 2015). Ainsi, l'augmentation de l'activité enzymatique de la bêta-glucosidase avec la culture de *Jatropha* pourrait être expliquée par la disponibilité du carbone dans le sol rhizosphérique (Singh *et al.*, 2013). L'activité enzymatique de la bêta-glucosidase est ainsi un indicateur approprié pour prédire les taux de carbone organique dans les sols (Lagomarsino *et al.*, 2009). L'activité de cette enzyme est également positivement corrélée avec la teneur en azote (Lagomarsino *et al.*, 2009). La culture de la provenance locale Lompoul entraîne une augmentation de l'activité enzymatique de l'uréase ; les études de Singh *et al.* (2013) ont également montré une augmentation de l'activité d'une autre enzyme impliquée dans le cycle de l'azote (protéase) avec la culture de *Jatropha*.

Toutes les provenances de *Jatropha* ont entraîné une augmentation de l'activité enzymatique de la phosphatase acide et de l'activité respiratoire microbienne (respiration basale) des sols ; ce qui est en adéquation avec les travaux de Brzostek *et al.* (2013). En effet, dans ces études de Brzostek *et al.* (2013), l'activité de la phosphatase acide et l'activité

respiratoire microbienne (respiration basale) étaient significativement plus élevées dans la rhizosphère que dans le sol non rhizosphérique.

IV-1-3-Diversité et structure des communautés microbiennes

Notre étude a montré une modification de la structure de la communauté bactérienne totale par la culture de *Jatropha curcas*. L'apport de substrats par les racines dans la rhizosphère (Paterson, 2003) pourrait expliquer ce changement dans la composition de la communauté bactérienne totale. Cependant, les études de Dieng *et al.* (2014) n'ont pas montré d'influence de la culture de *Jatropha* sur la structure de la communauté bactérienne totale, mais cette étude avait montré un impact de *Jatropha* sur la communauté fongique. Dans cette présente étude, *Jatropha* entraîne une modification de 43% de la communauté fongique et 33% de la communauté bactérienne totale. L'effet de l'origine des plantes sur les champignons pourrait être attribué à la diversité phénotypique de ces plants de *Jatropha*. Les champignons sont ainsi plus sensibles à la culture de *Jatropha* que les bactéries. Cette sensibilité de la communauté fongique vis-à-vis de la culture de *Jatropha* serait due au fait que *Jatropha* est une plante qui peut être fortement mycorhizée (Charoenpakdee *et al.*, 2010).

Les communautés bactériennes nitrifiantes et fixatrices d'azote n'ont pas été influencées par la culture de *Jatropha*, par contre, les communautés dénitrifiantes montrent des dissimilarités de 45% entre sols cultivés avec *Jatropha* et sols non cultivés. De plus, la diversité de Shannon des communautés dénitrifiantes est plus élevée avec la culture de *Jatropha* et pourrait être expliquée par les teneurs en azote et en carbone qui augmentent dans la rhizosphère de *Jatropha*. En effet, la diversité de Shannon des communautés dénitrifiantes (NirK) est positivement corrélée avec les teneurs en carbone et en azote. L'abondance des gènes nirK et la dénitrification sont positivement liées à la disponibilité de l'azote et du carbone dans le sol (Clark *et al.*, 2012 ; Miller *et al.*, 2012). En étudiant les communautés bactériennes dénitrifiantes par DGGE, Ma *et al.* (2008) montrent une augmentation de la complexité de ces communautés dans les sols cultivés. Nos résultats montrent également une corrélation positive entre la diversité de Shannon des communautés dénitrifiantes (NirK) et celle de la communauté bactérienne totale ; les études de Clark *et al.* (2012) avaient déjà montré une relation positive de ces deux communautés en termes d'abondance.

Les diversités de Shannon des communautés bactériennes nitrifiantes (CTO) et dénitrifiantes sont positivement corrélées ; ce qui pourrait expliquer la relation linéaire positive

entre la nitrification et la dénitrification trouvée dans des études antérieures (Abbasi et Adams, 2000 ; Frank *et al.*, 2000 ; Brankatschk *et al.*, 2011).

IV-2-Influence de l'association Jatropha-mil sur les caractéristiques chimiques et biologiques des sols

Les teneurs en carbone total et en azote total sont significativement différentes entre les sols rhizosphériques de la culture pure de Jatropha et les sols témoins et non significativement différentes entre les sols rhizosphériques du mil, les sols rhizosphériques de Jatropha en association avec le mil et les sols témoins. Ceci semble indiquer que la culture de Jatropha améliore mieux les teneurs en carbone et en azote que la culture du mil dans cette présente étude et cela pourrait être expliqué soit par la période d'échantillonnage soit par la nature des cultures. En effet, De Raissac *et al.* (1998) avaient trouvé un changement de la quantité des substances libérées dans les sols en fonction des saisons ; de plus, le mil est une culture annuelle et Jatropha une culture pérenne. Les études de DuPont *et al.* (2014) ont montré que les sols cultivés avec les cultures annuelles ont des teneurs en carbone plus faibles que les sols cultivés avec des plantes pérennes du fait de la biomasse racinaire qui est plus élevée chez les plantes pérennes. Les quantités de substances excrétées par les racines sont déterminées par l'état de fonctionnement et par l'état de croissance (De Raissac *et al.*, 1998).

La culture de Jatropha n'a pas eu d'influence sur la composition rhizosphérique du mil. Des études antérieures n'ont pas montré d'effet allélopathique de Jatropha sur la croissance des acacias et du niébé en culture intercalaire (Dieng *et al.*, 2015) et sur le rendement du blé lorsque cette plante est utilisée comme haie vive (Sahoo *et al.*, 2009). Jatropha peut ainsi être cultivé en association avec les cultures saisonnières ou fruitières (Gour, 2006). La promotion de l'association Jatropha avec les cultures vivrières permet de réduire le labourage (Favretto *et al.*, 2014) qui n'est pas nécessaire avec la culture de Jatropha permettant ainsi une amélioration de la qualité des sols par le stockage de carbone organique (Razafimbelo *et al.*, 2006).

Nos résultats montrent que les communautés bactériennes nitrifiantes et dénitrifiantes (impliquées dans le cycle de l'azote) sont plus sensibles à la culture de Jatropha qu'à la culture du mil. Cependant, l'activité des enzymes impliquées dans les cycles du carbone, de l'azote et du phosphore, quant à elle, est plus élevée avec la culture du mil qu'avec la culture de Jatropha dont la rhizosphère contient des teneurs en azote plus élevées, mais non significatives. Les composés exsudés par les racines de Jatropha pourraient être moins minéralisables par les

communautés microbiennes que ceux libérés par les racines du mil. Ainsi, l'activité des communautés microbiennes va être plus importante dans la rhizosphère du mil que dans la rhizosphère de *Jatropha* du fait de la dégradation rapide des composés relativement labiles de la rhizosphère du mil. Le caractère relativement moins dégradable des exsudats racinaires de *Jatropha* par rapport à ceux du mil fait que les communautés microbiennes seront relativement plus diversifiées avec la culture de *Jatropha*. Paterson (2003) note que la plante peut contrôler l'effet bénéfique que peut avoir les communautés microbiennes sur la plante elle-même en affectant directement l'expression des gènes de ces communautés microbiennes à travers la qualité des substances exsudées.

V-Conclusion

Notre étude a identifié une provenance locale de *Jatropha* nommé Lompoul, donc, bien adaptée aux conditions locales qui entraîne une meilleure amélioration des teneurs en azote total et en nitrates et de la diversité de Shannon des communautés bactériennes nitrifiantes et dénitrifiantes. Les activités enzymatiques de la Béta-glu et de la phosphatase acide ainsi que la biomasse microbienne sont également plus élevées avec la culture de cette provenance Lompoul. Toutefois, une amélioration des teneurs en phosphore et en ammonium par la culture de la provenance Mozambique et une diversité de Shannon de la communauté bactérienne totale qui semble être plus sensible à la culture de la provenance locale Fois 1 ont été observées. *Jatropha* est une plante pérenne pouvant être cultivé en association avec la culture du mil. Dans cette étude, les communautés bactériennes nitrifiantes et dénitrifiantes sont plus sensibles à la culture de *Jatropha* qu'à la culture du mil. Cependant, les activités enzymatiques impliquées dans les cycles du carbone, de l'azote et du phosphore sont plus élevées avec la culture du mil qu'avec la culture de *Jatropha*.

Chapitre IV : Analyse de la diversité, de la structure et de la dynamique des communautés bactériennes des sols sous l'influence de *Jatropha curcas* L. par une approche métagénomique

Chapitre IV : Analyse de la diversité, de la structure et de la dynamique des communautés bactériennes des sols sous l'influence de *Jatropha curcas* L. par une approche métagénomique

I-Introduction

Dans les chapitres précédents, la diversité et la dynamique structurale des communautés bactériennes totales et spécifiques impliquées dans les cycles de l'azote sous l'influence de la culture de *Jatropha* ont été étudiées avec des techniques d'empreintes génétiques telles que la DGGE. Cependant, à l'issue de ces expérimentations, la diversité phénotypique de *Jatropha* ne semble pas influencer la diversité des communautés bactériennes au niveau rhizosphérique et avec l'incorporation de litière de cette plante dans les sols. Il est donc nécessaire d'identifier les différentes unités taxonomiques concernées pour mieux comprendre leur structuration, leur interaction ainsi que leur dynamique sous l'influence de la rhizosphère et de la litière de *Jatropha*. L'identification des unités taxonomiques au niveau de l'espèce permet d'évaluer les diversités alpha par les indices de richesse spécifique et de diversité de Shannon. La diversité alpha représente la diversité des organismes dans un échantillon ou dans un environnement donné (Navas-Molina *et al.*, 2013). Les avancées technologiques en matière de séquençage d'ADN et la disponibilité d'outils bio-informatiques rendent plus faciles la caractérisation des communautés microbiennes de différents environnements (Navas-Molina *et al.*, 2013) permettant ainsi de déterminer rapidement la diversité et l'abondance de plusieurs espèces et leur organisation taxonomique simultanément (Rincon-Florez *et al.*, 2013). La diversité génétique au niveau taxonomique des microorganismes est communément étudiée par la détermination des gènes codant l'ARN ribosomal. A notre connaissance, peu d'études métagénomiques ont été effectuées sur les sols cultivés avec *Jatropha* et aucune étude n'a encore été menée sur l'influence de la variabilité phénotypique de cette plante sur la diversité taxonomique bactérienne. De plus, les dynamiques taxonomiques bactériennes au cours des processus de minéralisation de la litière de *Jatropha* n'ont pas encore été élucidées. Comparées aux champignons, peu d'informations sont disponibles sur les communautés bactériennes intervenant dans les processus de décomposition des litières (Kim *et al.*, 2014). Les nouvelles techniques de séquençages fournissent des informations quantitatives et taxonomiques plus

détaillées que l'approche basée sur la DGGE (Schreiter *et al.*, 2014). Ainsi, les techniques d'empreintes génétiques (DGGE) ont une résolution inférieure à celles des nouvelles techniques de séquençage à haut débit (Gobet *et al.*, 2014).

L'objectif de ce chapitre est d'étudier la dynamique et la diversité alpha des communautés bactériennes des sols rhizosphériques et issus de la décomposition de feuilles de différentes provenances (phénotypiquement différentes) de *Jatropha* dans les sols à travers une étude métagénomique par séquençage à haut débit et utilisation d'outils bio-informatiques performants.

II-Matériel et Méthodes

II-1-Description des échantillons

Les échantillons qui ont servi à l'identification et à l'étude de la diversité et de la dynamique des communautés bactériennes associées à la décomposition des feuilles de *Jatropha* sont constitués des sols mélangés avec des feuilles de *Jatropha* et incubés pendant 120 jours avec les sorties d'incubations de 0, 3, 28, 56, 90, 120 jours (Tableau 11). Les détails de ces échantillons ont été décrits dans le chapitre 2 de cette thèse et dont les « *résultats ont fait l'objet d'une publication scientifique* » (Dieye *et al.*, 2016). Les feuilles utilisées sont des feuilles jeunes de couleur verte (1) et des feuilles sénescentes de couleur jaune (2) des provenances Madiop Boye (MB), Banfadjiré (Ban), Mozambique (Moz) et Tanzanie (TZ).

Pour l'étude de la structure et de la diversité alpha des communautés bactériennes associées à la diversité phénotypique de *Jatropha curcas* L., nous avons utilisé les échantillons de sols provenant de la rhizosphère de six provenances de *Jatropha* dont trois provenances locales : Kamonghone, Fois 1 et Lompoul et trois provenances exotiques provenant d'Inde, de Mozambique et de Tanzanie cultivés dans la région de Kaffrine (la description du site d'étude et les caractéristiques des échantillons sont fournis dans le chapitre 3). Le protocole d'extraction d'ADN est également le même que ceux des chapitres précédents ; cependant, les répétitions d'échantillons ont été mélangées avant l'extraction d'ADN cette fois-ci.

Tableau 11 : Tableau récapitulatif des échantillons utilisés pour l'identification et l'étude de la diversité et de la dynamique des communautés bactériennes associées à la décomposition de feuilles de *Jatropha*.

Origine	Degré de maturité des feuilles	Traitements	Sorties d'incubation					
			0	3	28	56	90	120
Banfadjiré (Senegal)	Fraîches (Vertes)	Ban1(LB1)	Ban10	Ban13	Ban128	Ban128	Ban128	Ban128
	Sénescentes (Jaunes)	Ban2 (LB2)	Ban20	Ban23	Ban228	Ban256	Ban290	Ban2120
Madiop Boye (Senegal)	Fraîches (Vertes)	MB1	MB10	MB13	MB128	MB156	MB190	MB1120
	Sénescentes (Jaunes)	MB2	MB20	MB23	MB228	MB256	MB290	MB2120
Mozambique	Fraîches (Vertes)	MOZ1	MOZ10	MOZ13	MOZ128	MOZ156	MOZ190	MOZ1120
	Sénescentes (Jaunes)	MOZ2	MOZ20	MOZ23	MOZ228	MOZ256	MOZ290	MOZ2120
Tanzanie	Fraîches (Vertes)	TZ1	TZ10	TZ13	TZ128	TZ156	TZ190	TZ1120
	Sénescentes (Jaunes)	TZ2	TZ20	TZ23	TZ228	TZ256	TZ290	TZ2120
Témoin		T	T0	T3	T28	T56	T90	T120

II-2-Utilisation des Nouvelles Technologies de Séquençage ou NTS

Après extraction, les échantillons d'ADN ont été envoyés à MR DNA ([www.http://mrdnalab.com/](http://mrdnalab.com/)) pour un séquençage à haut débit de la région variable V4 du gène codant pour de l'ARN ribosomal 16S avec la technologie de Ion Torrent PGM suivant les instructions du fabricant. Brièvement, le couple d'amorces 515/806 (Caporaso *et al.*, 2011) avec les codes-barres (annexe 4) accrochés à l'amorce « forward » et le kit HotStar Taq Plus Master Mix (Qiagen, USA) ont été utilisés pour amplifier la région V4. Le séquençage a été effectué sur un seul brin d'ADN avec 30 cycles d'amplification dans les conditions suivantes : une dénaturation à 94°C pendant 3 minutes, suivie de 28 cycles de 94°C pendant 30 s, 53°C pendant 40 s et 72°C pendant 1 minute et enfin une élongation finale à 72°C pendant 5 minutes.

Les données de séquençage ont été traitées avec le pipeline d'analyse de MR DNA (MR DNA, Shallowater, TX, USA). Après filtration des séquences, les unités taxonomiques opérationnelles (OTU) ont été définies par regroupement à 97% de similarité et l'OTU finale est classée en utilisant une base de données organisée dérivant de GreenGenes, RDPII et de NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov, DeSantis *et al.* (2006), <http://rdp.cme.msu.edu>). La

composition bactérienne a ainsi été déterminée du niveau taxonomique du phylum à celui de l'espèce.

II-3-Analyse de la diversité et de la richesse spécifique

La différence de diversité alpha (diversité des organismes dans un échantillon ou dans un environnement donné) entre échantillons est l'une des premières questions que l'on se pose dans une étude d'analyse phylogénétique (McMurdie and Holmes, 2013). Cette diversité alpha est estimée dans cette étude en utilisant l'indice de richesse spécifique Chao1 et l'indice de diversité de Shannon. La richesse spécifique Chao1 est le nombre d'unités taxonomiques pour chaque échantillon. La diversité de Shannon prend en compte le nombre d'espèces et la répartition des individus au sein d'une espèce. Ces indices de diversité et de richesse spécifique ont été estimés en utilisant le package phyloseq (version 1.10.0) du logiciel R version 3.1.2. La richesse spécifique et la diversité de Shannon sont représentées sur un graphe et chaque échantillon est représenté par une couleur spécifique avec la commande «plot_richness» (McMurdie et Holmes, 2013) disponible sur le site suivant : <http://joey711.github.io/phyloseq>. Phyloseq, développé par McMurdie et Holmes (2013), est un package open-source permettant des analyses statistiques sur des données phylogénétiques de séquençage avec l'environnement et le langage R ; les graphes obtenus sont visualisés à l'aide du package ggplot2 (Version 1.0.1).

II-4-Analyse de la structure taxonomique

Les méthodes d'ordination peuvent être utilisées pour l'exploration des données phylogénétiques complexes de séquençage à haut débit (McMurdie and Holmes, 2012). Une analyse MDS (Multidimensional scaling) a été réalisée pour visualiser la structuration spécifique des phyla en fonction des provenances des plantes de *Jatropha*, du type de résidu et du temps d'incubation. L'ordination avec la méthode MDS est utilisée pour réduire la complexité des données permettant ainsi une visualisation de la relation structurale entre ces données par une estimation de similarités entre groupes d'éléments (Hout *et al.*, 2013).

Une NMDS basée sur les distances de similarité de Bray-Curtis (Galimanas *et al.*, 2014) a été réalisée avec phyloseq (R package) pour visualiser la structuration des communautés bactériennes totales et la distribution des phyla à travers les échantillons. L'analyse multidimensionnelle NMDS est une méthode d'ordination utilisant un algorithme itératif

prenant les données multidimensionnelles d'une matrice de similarité et les présente sur un espace à dimension réduite généralement au nombre de deux (D'Anteo *et al.*, 2015).

Une analyse DCA (Detrended correspondence analysis), une méthode similaire à l'ACP (Leland *et al.*, 1986) a également été réalisée ; il s'agit d'une méthode très sensible aux différences entre échantillons et fournit une ordination des espèces (ou des OTU en général) très significative.

La méthode d'ordination de l'Analyse en Correspondance (AC) a été utilisée pour pouvoir fournir les informations sur les unités taxonomiques qui expliquent les différences entre échantillons, des informations additionnelles non fournies par une analyse en coordonnées principales (PCoA) ou par une analyse Non-metric Multi-Dimensional scaling (McMurdie et Holmes, 2012). Ainsi, cette méthode d'ordination (AC) permet une analyse simultanée des échantillons et des unités taxonomiques (Giraudel and Lek, 2001).

III-Résultats

Dans ce chapitre, combinant l'étude de l'effet des feuilles et de la rhizosphère de différents phénotypes de *Jatropha curcas* L. sur la composition des communautés bactériennes du sol, 38.029 séquences bactériennes ont été identifiées et réparties en 1.979 espèces, 755 genres, 238 familles, 108 ordres, 51 classes et 22 phyla.

III-1-Diversité taxonomique et dynamique bactérienne au cours de la décomposition de la litière foliaire de *Jatropha*

III-1-1-Diversité taxonomique

L'apport de feuilles de *Jatropha* au sol a entraîné une augmentation de la diversité alpha (Figure 28) avec une richesse spécifique de l'ordre de 24.000 dans les sols témoins et 33.000 pour les sols amendés avec les feuilles fraîches et sénescentes qui ont montré une même tendance. La diversité de Shannon (Figure 28), quant à elle, était plus élevée dans les sols amendés avec les feuilles sénescentes.

Les analyses de diversité alpha avec phyloseq ont également révélé une diminution de la diversité de Shannon et de la richesse spécifique au cours du temps à l'exception du 28^{ème} jour d'incubation dont les sols ont eu la diversité de Shannon la plus faible (Figure 28).

Les feuilles de *Jatropha* de la provenance Tanzanie ont entraîné les diversités de Shannon les plus élevées suivies de celles des provenances Banfadjiré (locale), Madiop Boye (locale) et Mozambique. Cependant, la richesse spécifique était similaire entre sols amendés avec les feuilles des provenances Madiop Boye et Tanzanie (Figure 28).

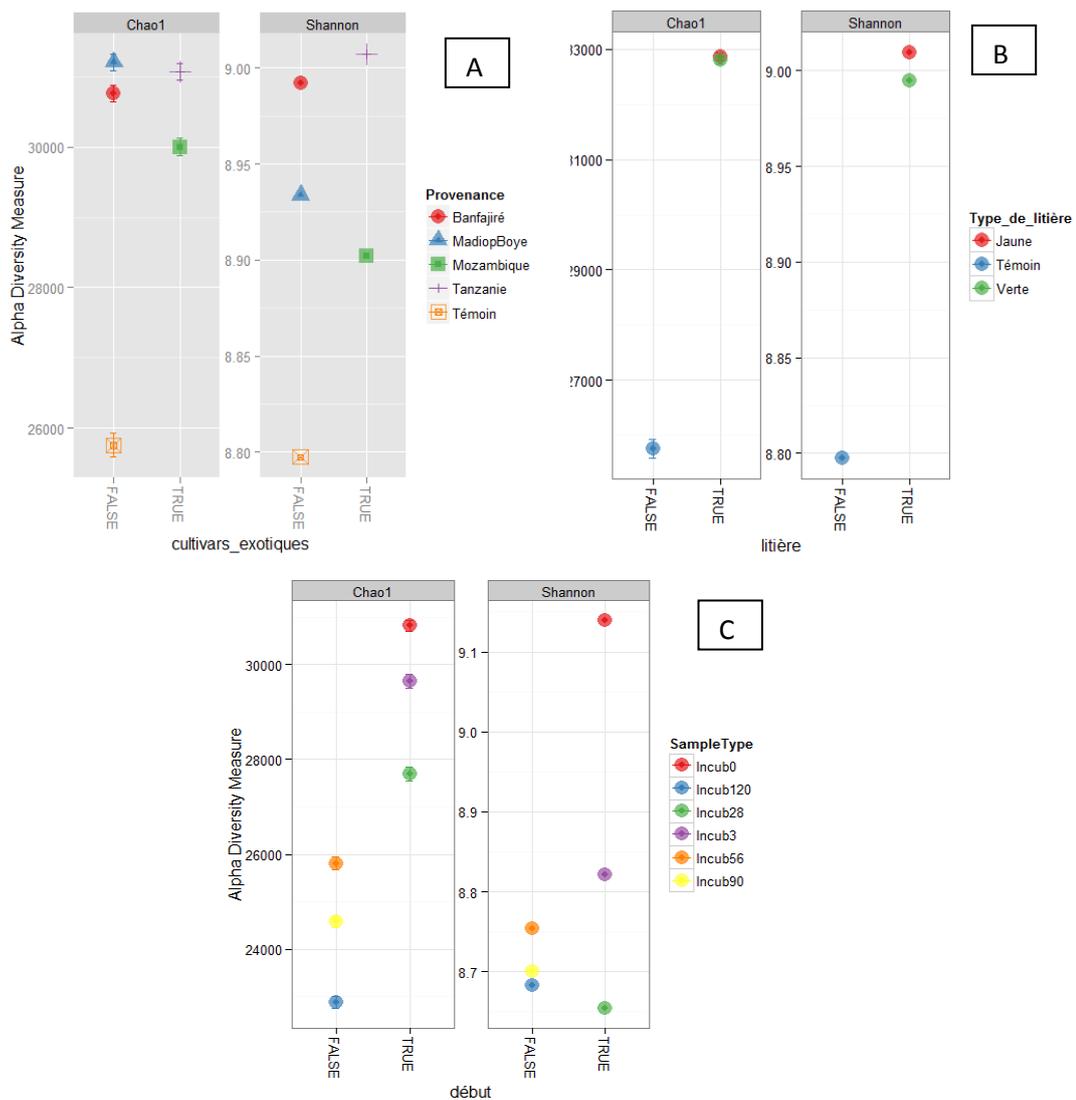


Figure 28: Richesse spécifique et diversité de Shannon des sols en fonction des provenances (A: TRUE=provenances locales, FALSE=provenances exotiques), du type de litière foliaire apportée (B : TRUE=apport de feuilles, FALSE=sans apport) et du temps d'incubation (C : TRUE= début d'incubation, FALSE=fin d'incubation).

III-1-2- Dynamique taxonomique : une évolution r/K stratégistes entre Protéobactéria et Actinobactéria vs Firmicutes et Acidobactéria

Parmi les 22 phyla, les plus abondants ont été les Firmicutes, les Protéobactéria, les Actinobactéria et les Acidobactéria. Les Firmicutes ont eu des abondances relatives qui variaient entre 34,46 % avec les feuilles de MB2 à 3 jours et 64,39 % dans les sols incorporés des feuilles MOZ1 à 90 jours. Les Protéobactéria venaient en seconde position avec des abondances variant entre 11,34 % avec le traitement MOZ1 à 120 jours et 40,5 % avec MB2 à 3 jours d'incubation (ANNEXE 3).

Les abondances relatives des Protéobactéria ont été positivement corrélées avec celles des Actinobactéria ($p < 0,0001$) et négativement avec celles des Firmicutes ($p < 0,0001$) et des Acidobactéria ($p < 0,001$; Figure 29). En effet, les Firmicutes et les Acidobactéria ont eu des abondances relatives qui ont diminué dans les premières semaines (jusqu'à 28 jours) puis une augmentation de ces abondances a été observée jusqu'à 120 jours. Les abondances relatives des Protéobactéria et des Actinobactéria ont eu des tendances inverses.

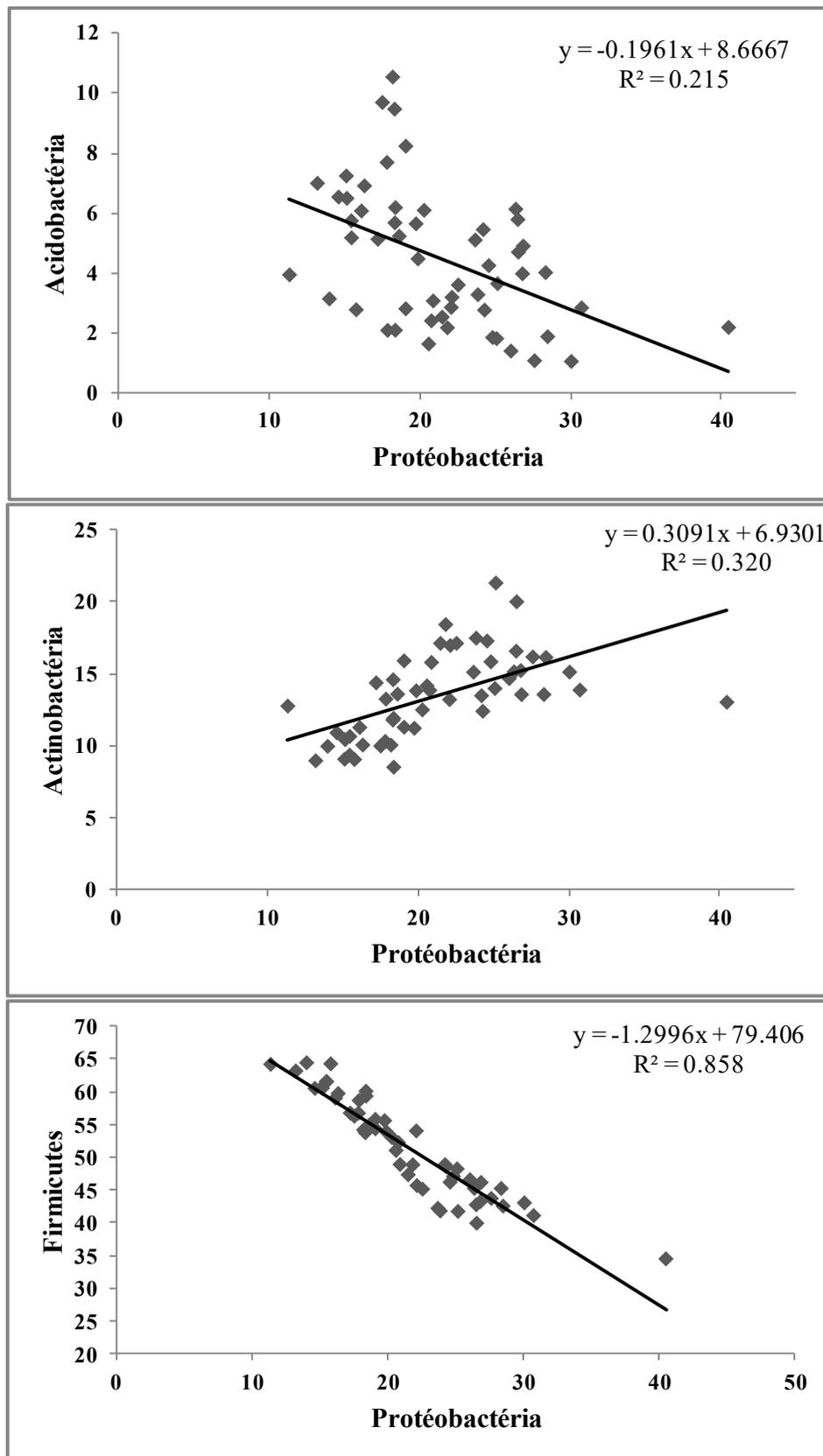


Figure 29 : Corrélation entre les abondances relatives des Protéobactéria et les abondances relatives des Acidobactéria, des Actinobactéria et des Firmicutes.

III-1-3-Les méthodes d'ordination

III-1-3-1-Méthode d'ordination DCA

La méthode d'ordination DCA a montré que la structure de la communauté bactérienne totale a été influencée par la durée de l'incubation et non par le type de résidu ni par la provenance des plants de *Jatropha* (Figure 30). En effet, la DCA nous a montré une séparation entre le début de l'incubation (0 et 3 jours) et les étapes avancées (28, 56, 90 et 120 jours). Cependant, les distances entre ces étapes avancées ont été faibles. Ainsi, à partir de 28 jours les communautés bactériennes ont présenté une faible évolution (ou variabilité).

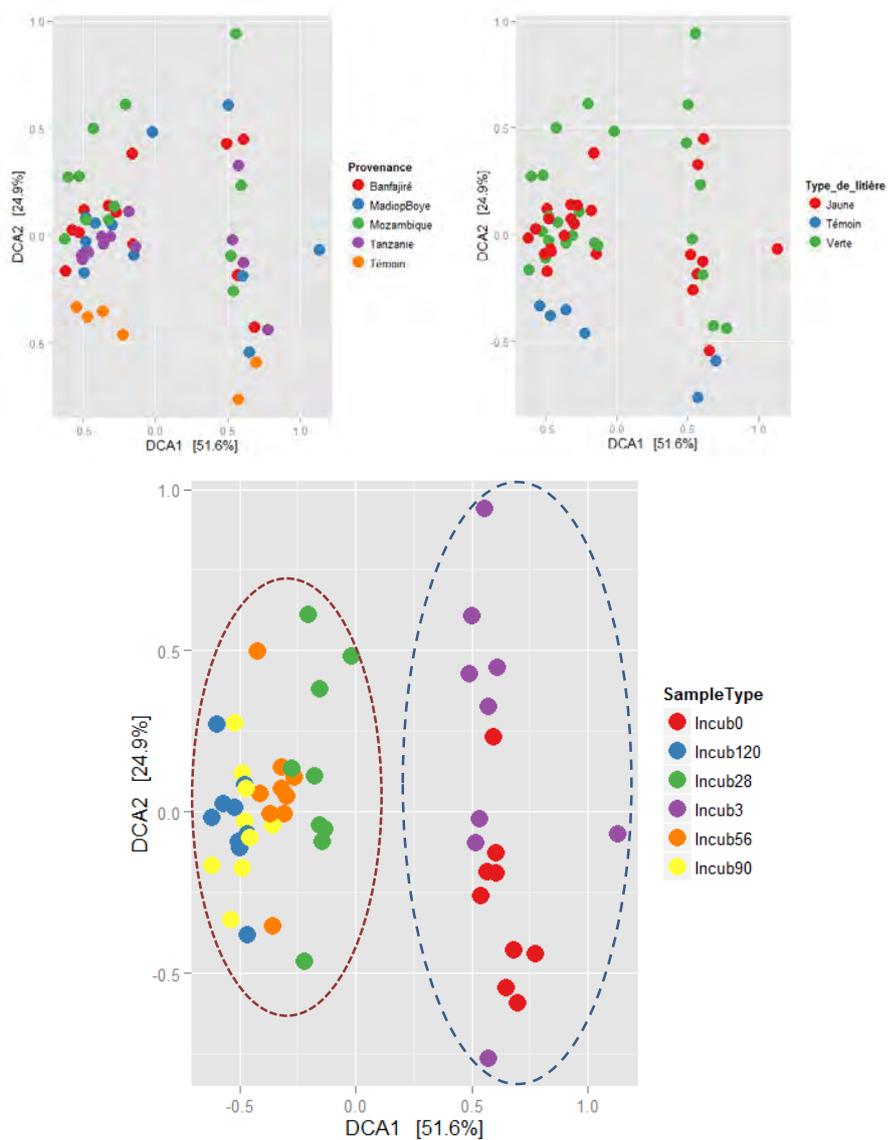


Figure 30: DCA des sols en fonction de la durée de l'incubation, du type de litière et de la provenance.

III-1-3-2-Méthode d'ordination MDS

L'étude de la structure de la communauté bactérienne totale par la DCA n'ayant pas montré d'influence du degré de maturité des feuilles ni de la provenance des plants de *Jatropha* ; nous avons étudié la structuration des phyla les plus abondants (Firmicutes, Actinobactéria et Protéobactéria) afin de déceler d'éventuels effets du degré de maturité des feuilles (fraîches ou sénescents) ou de diversité phénotypique de *Jatropha* sur la structuration des bactéries au niveau taxonomique du phylum. La méthode d'ordination MDS a ainsi été utilisée à cet effet.

Parmi les phyla les plus abondants (Firmicutes, Actinobactéria, Acidobactéria et Protéobactéria), seule la structure des Firmicutes a été impactée par l'apport de feuilles de *Jatropha curcas*, mais aussi par le degré de maturité des feuilles avec l'analyse MDS (Figure 31). Cependant, la structure des Firmicutes dans les sols n'a été impactée ni par le temps d'incubation ni par la provenance. Les Acidobactéria (Figure 32) et les Protéobactéria (Figure 33) ont montré deux clusters en fonction du temps d'incubation ; un premier regroupement formé par les étapes initiales de l'incubation (0 et 3 jours) et un second formé par les étapes avancées de l'expérimentation (28, 56, 90 et 120 jours). Par rapport aux Acidobactéria et aux Protéobactéria, les Actinobactéria ont montré une structuration moins nette en fonction du temps (Figure 34).

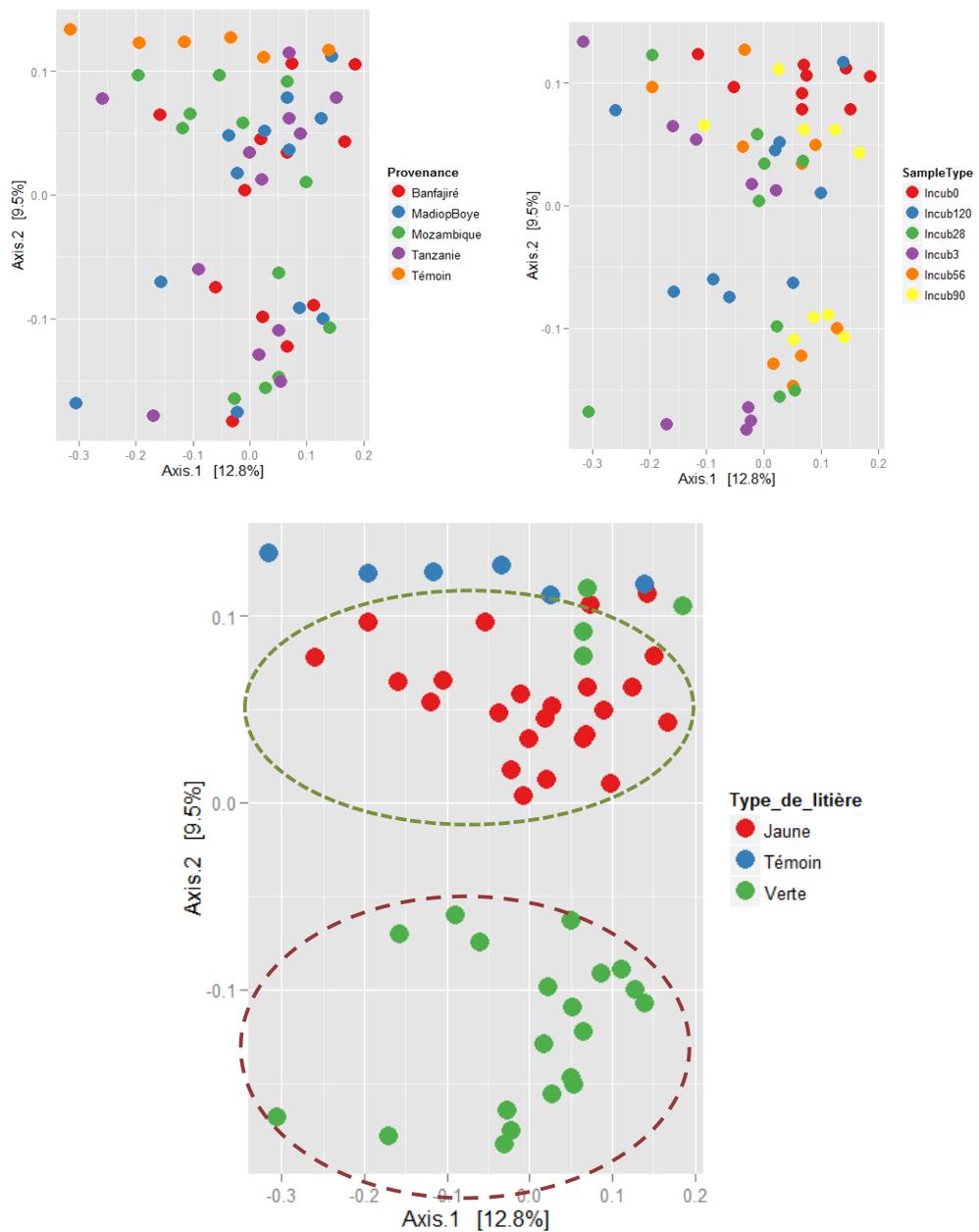


Figure 31: MDS pour le Phylum des Firmicutes en fonction des provenances de *Jatropha*, du degré de maturité des feuilles (type de litière) et du temps d'incubation (Sample Type).

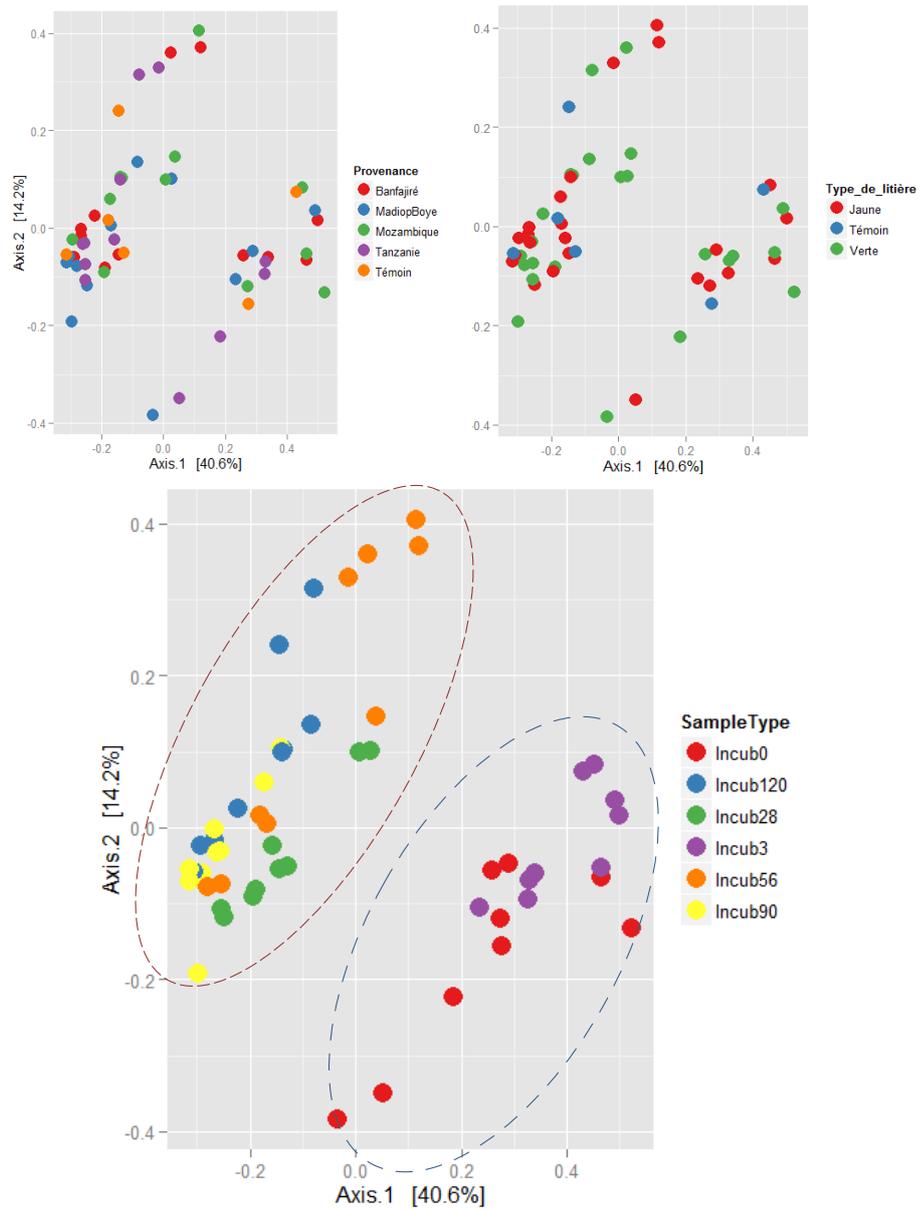


Figure 32: MDS pour le phylum des Acidobacteria en fonction des provenances de *Jatropha*, du degré de maturité des feuilles (type de litière) et du temps d'incubation (Sample Type).

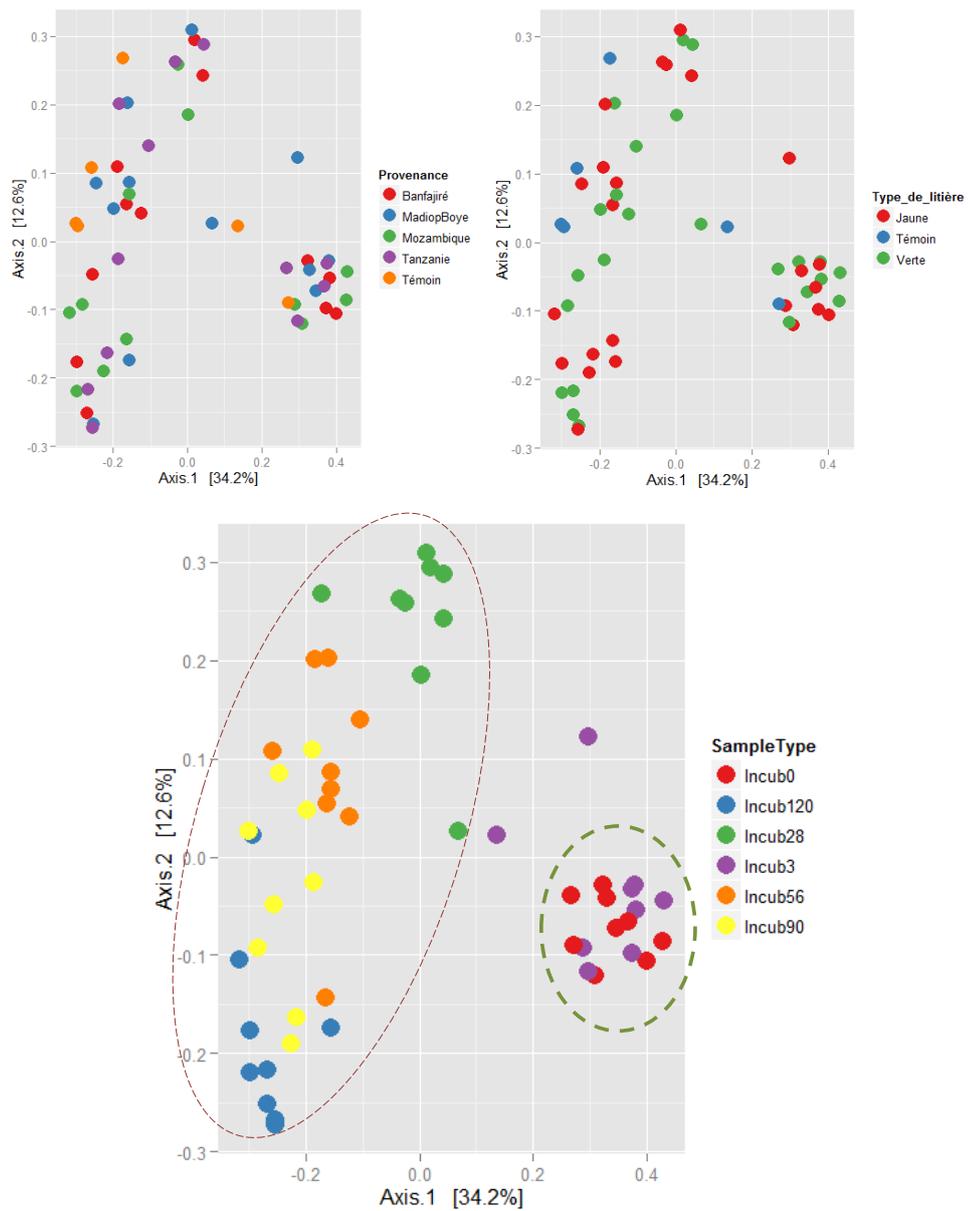


Figure 33: MDS pour le phylum Protéobactéria en fonction des provenances de *Jatropha*, du degré de maturité des feuilles (type de litière) et du temps d'incubation (Sample Type).

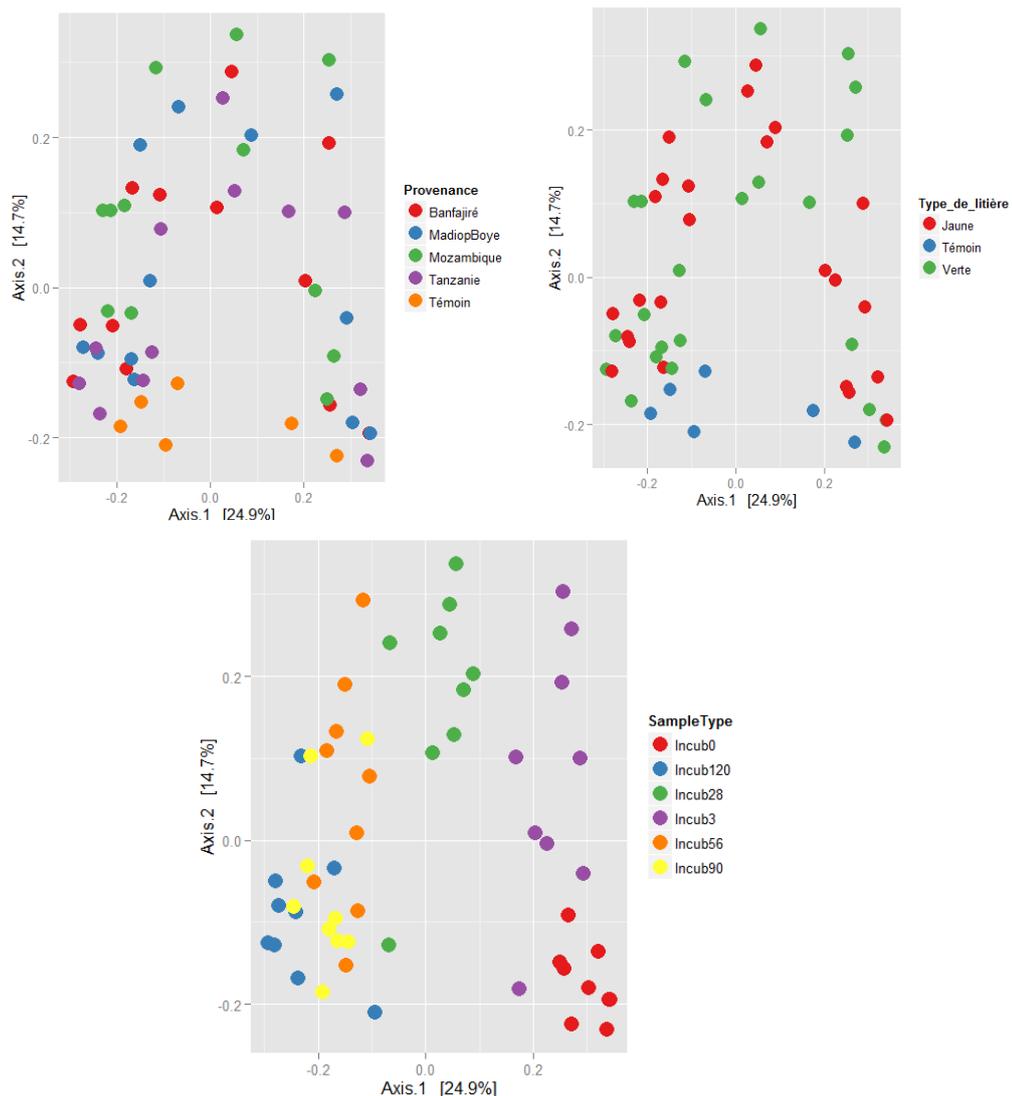


Figure 34 : MDS pour le phylum des Actinobactéria en fonction des provenances de *Jatropha*, du degré de maturité des feuilles (type de litière) et du temps d'incubation (Sample Type).

III-2-Influence de la diversité phénotypique de *Jatropha* sur la diversité taxonomique des bactéries rhizosphériques

III-2-1-Diversité alpha

Les estimations de la diversité alpha (richesse spécifique et diversité de Shannon) sont représentées par les figures 35 et 36. Les sols rhizosphériques des provenances exotiques de *Jatropha* (Inde, Mozambique et Tanzanie) ont eu des diversités de Shannon supérieures à celles des provenances locales (Fois 1, Kamonghone et Lompoul). La rhizosphère de la provenance Mozambique a présenté la diversité de Shannon la plus élevée suivie de celle de Tanzanie et d'Inde. Parmi les provenances locales, la rhizosphère de la provenance Lompoul a présenté la

diversité la plus faible suivie de Fois 1 et de Kamonghone qui ont eu des diversités pas très éloignées avec celle de la provenance Inde. La provenance Mozambique a également induit la richesse spécifique la plus élevée des sols, cependant, les provenances Kamonghone et Tanzanie ont présenté les indices de Chao1 les plus faibles et que le sol rhizosphérique de la provenance Lompoul a présenté une richesse spécifique similaire à celle de Fois 1.

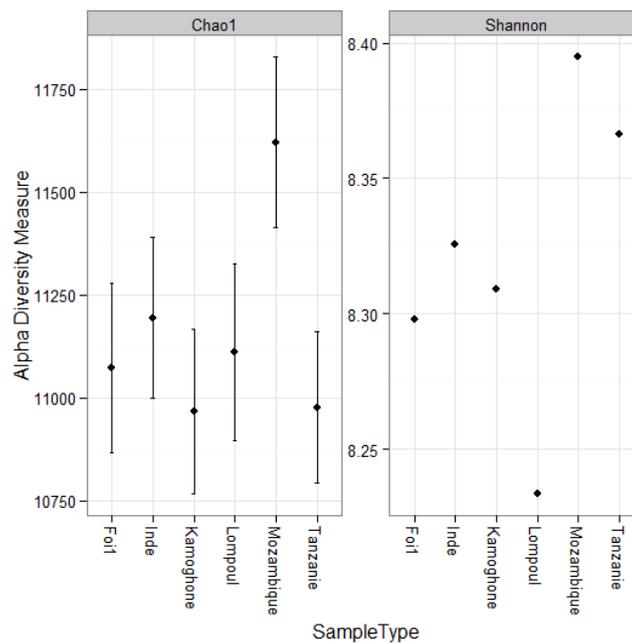


Figure 35 : Estimation de la diversité alpha : richesse spécifique (Chao1) et indice de diversité de Shannon des communautés bactériennes de la rhizosphère des différentes provenances (Sample Type) de *Jatropha*.

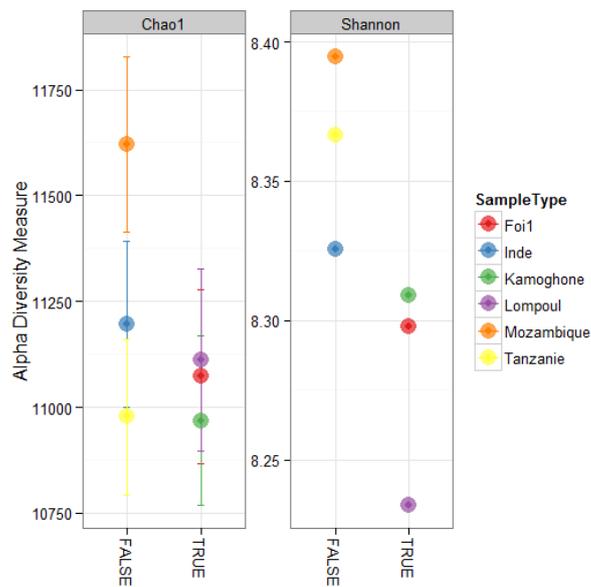


Figure 36 : Richesse spécifique (Chao1) et indice de diversité de Shannon des communautés bactériennes de la rhizosphère des différentes provenances de *Jatropha* : provenances locales à droite et provenances exotiques à gauche (TRUE= provenances locales, FALSE=provenances exotiques).

III-2-3-Structure des phyla en fonction des sols rhizosphériques des différentes provenances

Le phylum des Firmicutes a montré une forte similarité entre les sols rhizosphériques des provenances Foi 1, Kamonghone, Inde et Mozambique et une dissimilarité entre les sols rhizosphériques de ces provenances, celui de Tanzanie et de Lompoul (Figure 37). Les Actinobactéries ont également montré la même tendance, mais avec une similarité moins marquée entre les sols rhizosphériques des provenances Foi 1, Kamonghone, Inde et Mozambique (Figure 40). La structure du phylum des Protéobactéria (Figure 38) et celle du phylum des Acidobactéria (Figure 39) ont montré des dissimilarités entre les sols rhizosphériques des différentes provenances de *Jatropha*.

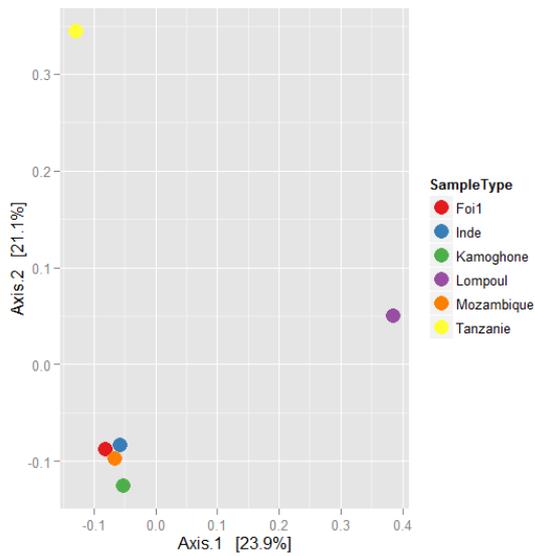


Figure 37 : MDS pour les Firmicutes de la rhizosphère de *Jatropha* des provenances Fois 1, Kamonghone, Lompoul, Inde, Mozambique et Tanzanie.

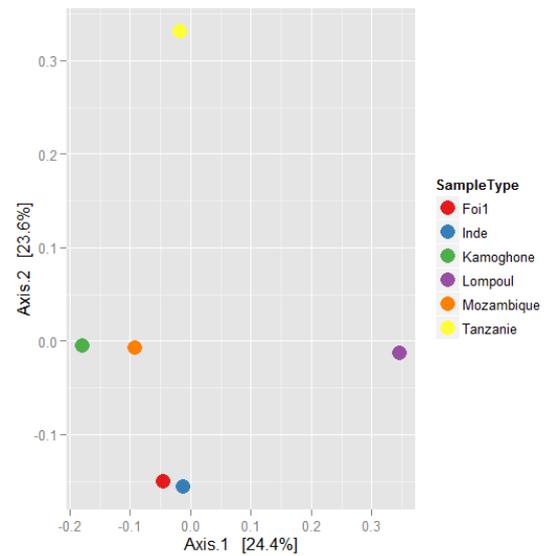


Figure 39 : MDS pour les Acidobactéria de la rhizosphère de *Jatropha* des provenances Fois 1, Kamonghone, Lompoul, Inde, Mozambique et Tanzanie.

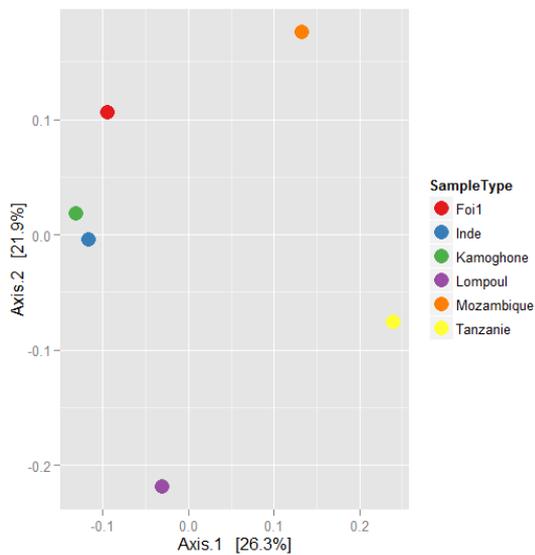


Figure 38 : MDS pour les Protéobactéria de la rhizosphère de *Jatropha* des provenances Fois 1, Kamonghone, Lompoul, Inde, Mozambique et Tanzanie.

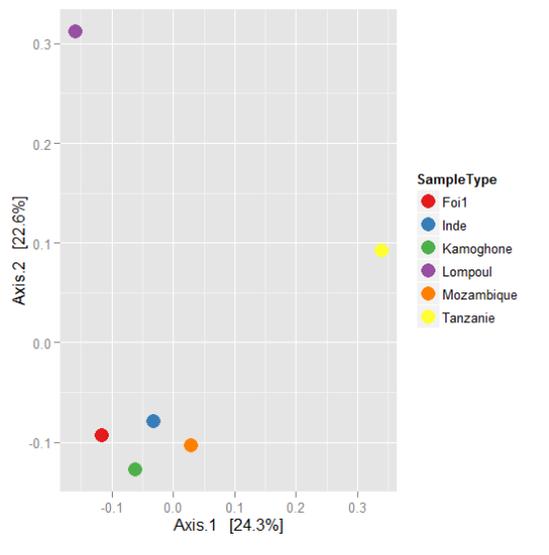


Figure 40 : MDS pour les Actinobactéria de la rhizosphère de *Jatropha* des provenances Fois 1, Kamonghone, Lompoul, Inde, Mozambique et Tanzanie.

Les méthodes d'ordinations NMDS (Figure 41) et CA (Figure 42) nous ont montré que la structure des communautés bactériennes rhizosphériques a été façonnée par la diversité phénotypique de *Jatropha*. Cependant, la similarité entre les communautés bactériennes de la rhizosphère des provenances Inde, Kamoghone et Fois 1 a été forte alors que la similarité entre les communautés bactériennes des sols rhizosphériques de ces provenances, ceux de Lompoul, de Mozambique et de Tanzanie a été faible.

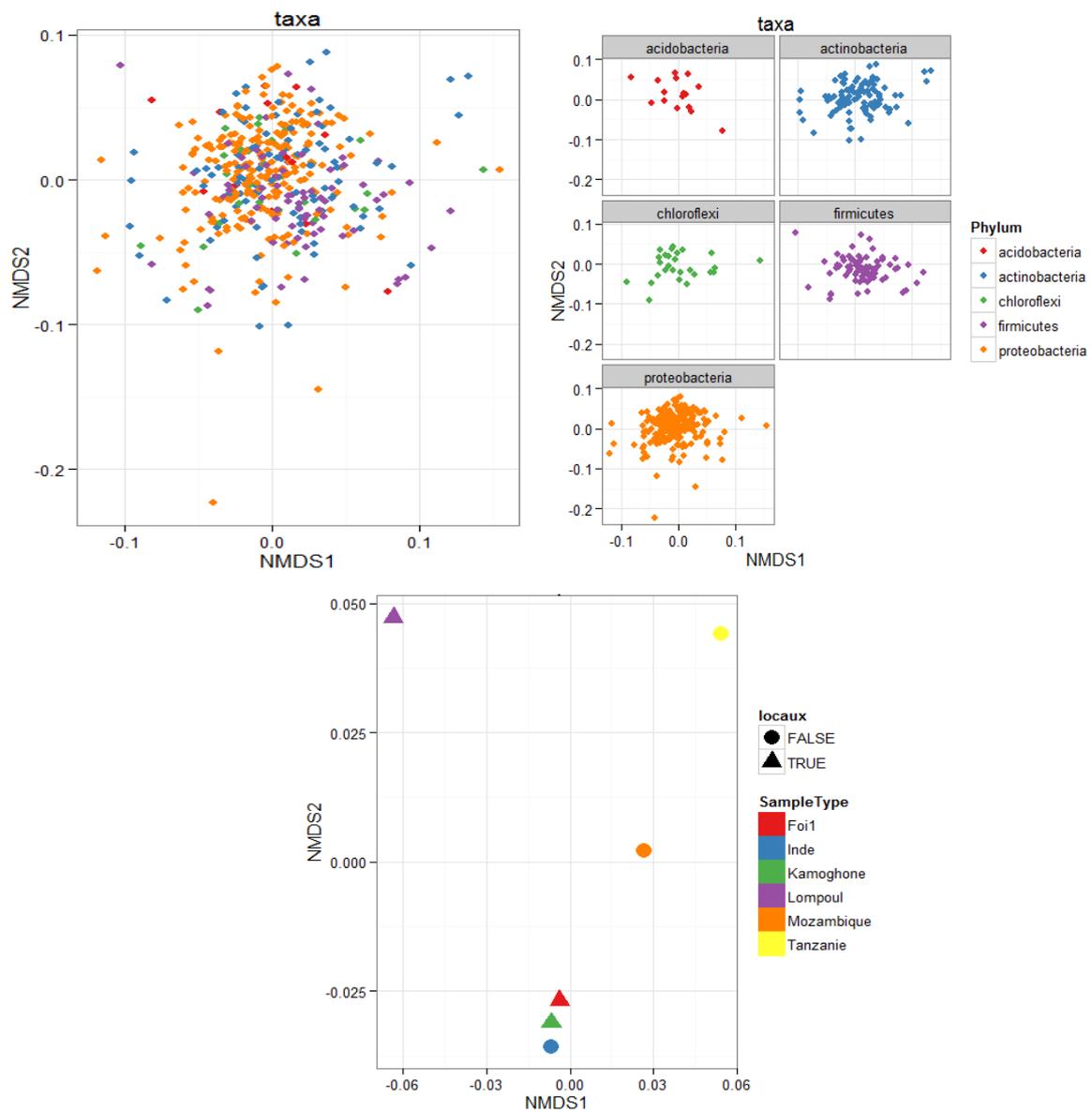


Figure 41 : NMDS des rhizosphères des différentes provenances de *Jatropha* et des 5 phyla les plus abondants (Acidobactéria, Actinobactéria, Chloroflexi, Firmicutes et Protéobactéria).

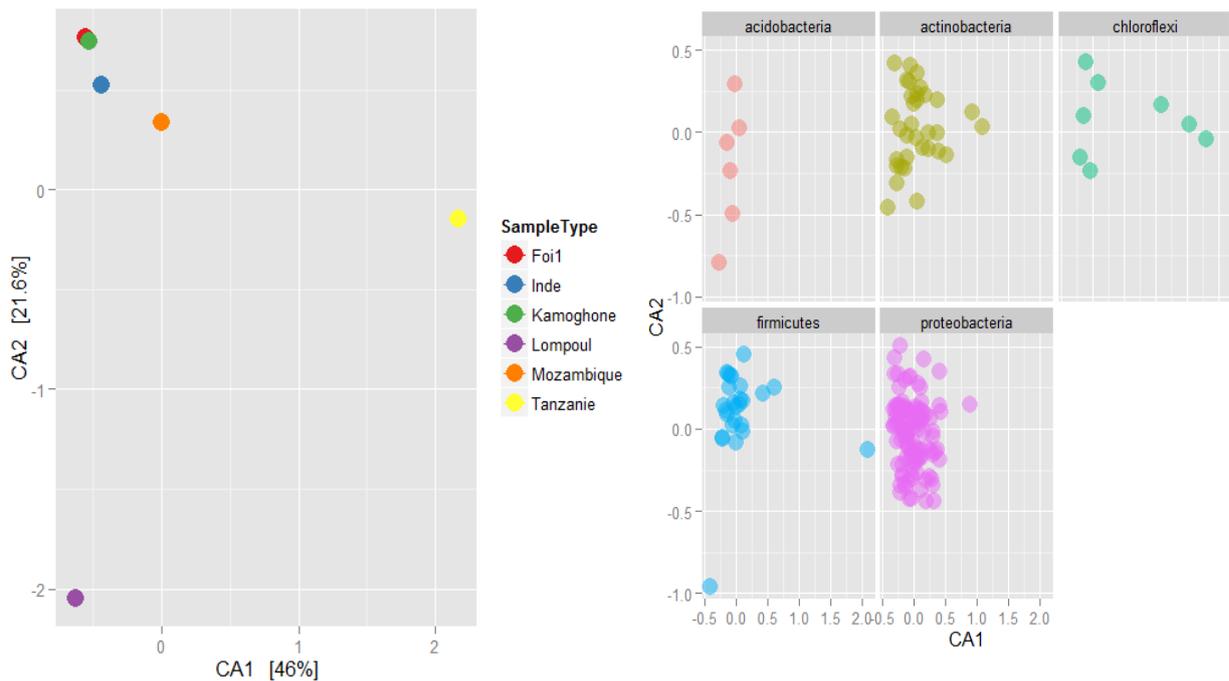


Figure 42 : Analyse en correspondance pour les 5 phyla les plus abondants des 200 OTU les plus abondantes de la rhizosphère des différentes provenances de *Jatropha*.

IV-Discussion

IV-1- Structure, dynamique et diversité génétique des communautés bactériennes impliquées dans la minéralisation des litières foliaires de *Jatropha*

IV-1-1-Diversité alpha

Les litières foliaires des provenances locales (Banfadjiré et Madiop Boye) et exotiques (Mozambique et Tanzanie) entraînent une augmentation de la diversité alpha des sols qui est plus élevée avec l'apport des feuilles sénescentes. Dans le chapitre 2, nous avons observé que les feuilles sénescentes (jaunes) ont eu des teneurs en lignine supérieures à celles des feuilles fraîches (vertes) et pourraient donner une explication à la différence des diversités alpha provoquée par ces deux types de résidu. Dans les travaux de DeAngelis *et al.* (2011), l'augmentation de la lignine a entraîné une augmentation de la diversité de Shannon des communautés microbiennes, mais cette augmentation de la lignine n'a eu aucun effet sur la richesse spécifique.

L'analyse des données métagénomiques des sols amendés avec les feuilles de *Jatropha* avec le package phyloseq de R montre une diminution de la diversité de Shannon et de la richesse spécifique (Chao1) au cours du temps. La diminution de la diversité alpha au cours de la minéralisation des feuilles, pourrait s'expliquer par l'augmentation de la dominance des Firmicutes au cours du temps. En effet, la dominance d'un groupe dans une communauté a pour effet une diminution de la diversité de cette communauté (Grall et Coïc, 2006), car la diversité prend en compte le nombre d'espèces et la répartition des individus dans chaque espèce.

Dans notre étude, l'analyse de la dynamique de diversité des communautés bactériennes par les méthodes de séquençage à haut débit et celle de la méthode d'empreinte génétique de la DGGE au cours des processus de minéralisation des litières foliaires de *Jatropha* semblent être en contradiction. En effet, les méthodes de la DGGE utilisées dans le deuxième chapitre de cette thèse avaient montré une augmentation de la diversité de Shannon avec le temps d'incubation. De plus, les diversités de Shannon sont plus élevées avec les méthodes de séquençage d'ADN à haut débit. Cette tendance a été observée dans plusieurs études sur la diversité des communautés microbiennes combinant l'utilisation des NTS et des approches basées sur les empreintes génétiques (Nam *et al.*, 2012 et Delgado *et al.*, 2013). La méthode d'analyse moléculaire de la DGGE est limitée par sa faible capacité de détection des espèces rares, alors que les NTS offrent une bien plus grande résolution. Ainsi, cette différence de diversité observée entre l'étude métagénomique et les techniques d'empreinte génétique serait due à une détection continue de diverses rares espèces par le séquençage à haut débit dont la composition n'est pas mise en évidence par la méthode de la DGGE.

Les diversités de Shannon sont plus élevées dans les sols amendés avec les feuilles de *Jatropha* de la provenance Tanzanie suivies de celles de Banfadjiré (locale), de Madiop Boye (locale) et enfin de Mozambique. Cependant, la richesse spécifique des sols amendés avec les résidus de Madiop Boye est similaire à celle de Tanzanie. Les différences de la composition chimique des feuilles des différentes provenances de *Jatropha* ont ainsi un impact sur la diversité bactérienne des sols amendés avec ces résidus de *Jatropha*. En effet, les feuilles de *Jatropha* des provenances Banfadjiré et Tanzanie ont des teneurs en carbone plus élevées que celles des provenances Madiop Boye et Mozambique. De plus, les résidus sénescents des provenances Banfadjiré et Tanzanie ont des teneurs similaires en azote (Tableau 1).

IV-1-2-Dynamique des communautés bactériennes au cours du processus de minéralisation des résidus de Jatropha.

Les abondances relatives des Protéobactéria et des Actinobactéria augmentent dans les premières semaines de la minéralisation des résidus de *Jatropha* et une augmentation de celles des Firmicutes et des Acidobactéria pendant les étapes avancées de la décomposition a été observée. Dans notre étude, l'abondance relative des protéobactéria augmente au début des processus de minéralisation due à la disponibilité des composés facilement dégradables des résidus. A l'inverse, les Firmicutes ont des abondances relatives élevées à long terme avec une faible disponibilité des composés facilement dégradables (DeAngelis *et al.*, 2013). Ainsi, l'augmentation des vitesses de décomposition des litières entraîne une augmentation de l'abondance des membres des Protéobactéria et une diminution de celle des membres des Acidobactéria (Fierer *et al.*, 2007).

Les membres des groupes des Protéobactéria ainsi que ceux des Actinobactéria dont les abondances augmentent dans les premières semaines de la décomposition des litières foliaires de *Jatropha* font partie des communautés bactériennes dénitrifiantes possédant les gènes *NosZ* et *NarG* respectivement (Enwall *et al.*, 2005). Les abondances relatives des Protéobactéries sont positivement corrélées avec la disponibilité de la matière organique (Fierer *et al.*, 2007) et l'apport de résidus de *Jatropha* (matière organique) a entraîné une augmentation de l'activité respiratoire microbienne des sols. Ainsi, les abondances relatives des Protéobactéria sont positivement corrélées avec la respiration microbienne (Cleveland *et al.*, 2006). Les Acidobactéria (oligotrophes) sont négativement associées à la disponibilité de la matière organique (Fierer *et al.*, 2007), donc à la respiration microbienne (Cleveland *et al.*, 2006).

Les Firmicutes, dans notre étude sont négativement corrélées à l'activité respiratoire microbienne, cependant, les études de Cleveland *et al.* (2006) classent les Firmicutes parmi les copiotrophes (corrélés positivement avec la respiration). Ainsi, une identification au niveau taxonomique du genre pourrait nous édifier sur les membres du phylum des Firmicutes qui sont associés à la minéralisation des composés labiles ou récalcitrants des feuilles de *Jatropha*.

IV-1-3-Structuration des communautés bactériennes

Les communautés bactériennes totales sont structurées en fonction du temps d'incubation qui s'expliquerait par une structuration au niveau taxonomique du phylum. En

effet, dans cette étude, le phylum des Actinobactéria, celui des Acidobactéria et celui des Protéobactéria sont structurés en fonction des étapes du processus de décomposition. Cependant, le phylum des Firmicutes est structuré en fonction de la qualité biochimique des feuilles de *Jatropha*. La diversité phénotypique de *Jatropha curcas* L. impacterait à travers les litières foliaires, la diversité bactérienne, ce qui ne se reflète pas sur la structuration bactérienne au niveau taxonomique du phylum car les phyla les plus abondants sont influencés soit par le temps d'incubation (Protéobactéria, Actinobactéria et Acidobactéria) soit par la qualité biochimique des litières (Firmicutes).

IV-2-Diversité phénotypique de *Jatropha* et diversité bactérienne rhizosphérique

Parmi les phyla identifiés dans notre étude sur les sols rhizosphériques de différentes provenances de *Jatropha*, les Protéobactéria constituent le phylum le plus abondant. A notre connaissance, la seule étude métagénomique des sols cultivés avec *Jatropha* (Agarwal *et al.*, 2015) montre une augmentation significative de ces Protéobactéria avec la culture de *Jatropha*. D'autres études ont également montré la dominance des Protéobactéries dans différents types des sols (Dorr de Quadros *et al.*, 2012 ; Kim *et al.*, 2014). Les Protéobactéria constituent avec les Bacteroidetes les phyla les mieux améliorés par la culture du maïs (Li *et al.*, 2014). Cette augmentation des Protéobactéria avec la culture de *Jatropha* pourrait être expliquée par le pH du sol, en effet, la culture de *Jatropha* a entraîné une augmentation significative du pH du sol (pH compris entre 5 et 7). Rousk *et al.* (2010) montrent une augmentation de l'abondance de certains membres des Protéobactéria avec l'augmentation du pH des sols.

Les sols rhizosphériques des plantes exotiques de *Jatropha* provenant d'Inde, de Mozambique et de Tanzanie ont des diversités de Shannon supérieures à ceux des provenances locales. Ceci pourrait s'expliquer par l'effet de sélection des provenances locales sur les communautés bactériennes du sol, ce qui entraîne ainsi une diminution de la diversité. En effet, les plantes peuvent influencer directement les communautés microbiennes bénéfiques à la croissance des plantes elles-mêmes (Paterson, 2003).

Une similarité élevée a été observée entre les communautés bactériennes de la rhizosphère de la provenance Inde et celles des provenances locales (Kamonghone et Fois 1) ; ceci pourrait s'expliquer par les caractéristiques phénotypiques de cette provenance qui sont

proches de celles des provenances du Sénégal (provenances locales) trouvées dans les travaux de Ndir *et al.* (2013).

La rhizosphère de la provenance Lompoul présente la diversité la plus faible, mais une bonne amélioration des paramètres chimiques et biologiques tels que la teneur en azote, la biomasse microbienne et les activités de la Béta-glu et de la Phosphatase acide a été observée avec la culture de cette provenance locale de *Jatropha* au Sénégal. Ainsi, cette provenance entraîne une augmentation rhizosphérique de l'activité microbienne, mais aussi une diminution de la diversité bactérienne étudiée par les techniques de séquençage à haut débit. La dominance des Protéobactéria dans les sols pourrait expliquer la diminution de la diversité bactérienne avec cette provenance locale alors que les autres propriétés chimiques et biologiques sont améliorées, car une communauté dominée par une seule espèce aura une diversité moindre qu'une communauté dont toutes les espèces sont co-dominantes (Grall et Coïc, 2006).

Les diversités de Shannon et les richesses spécifiques élevées, observées dans les sols rhizosphériques de la provenance Mozambique pourraient être expliquées par les teneurs en phosphore. En effet, les sols rhizosphériques de cette provenance ont les teneurs en phosphore les plus élevées confirmant les travaux de Tan *et al.* (2012) qui montrent une augmentation de l'abondance et de la diversité des communautés bactériennes avec la fertilisation phosphatée.

V-Conclusion

Les litières foliaires de *Jatropha* entraînent une augmentation de la diversité alpha des communautés bactériennes (diversité de Shannon et richesse spécifique) des sols. A travers la litière foliaire, la variabilité phénotypique de *Jatropha* impacte cette diversité de la communauté bactérienne totale ; cependant, elle n'influence pas la structuration taxonomique des phyla les plus abondants. La différence de la qualité biochimique initiale des feuilles fraîches et sénescents influence la structure du phylum des Firmicutes. Au-delà de 28 jours d'incubation de sols amendés avec les feuilles de *Jatropha*, les communautés bactériennes présentent une faible variabilité. Le phylum des Protéobactéria est la principale communauté présente dans les sols rhizosphériques de *Jatropha*. Contrairement à la litière, la structure au niveau taxonomique du phylum de la communauté bactérienne rhizosphérique est façonnée par la diversité phénotypique de *Jatropha*. Les sols cultivés avec les provenances exotiques de *Jatropha* ont des diversités de Shannon relativement supérieures aux sols cultivés avec les provenances locales.

Cependant, la provenance locale nommée Lompoul entraîne une bonne amélioration des paramètres chimiques tels que la teneur en azote et les activités enzymatiques de la Béta-glu et de la Phosphatase acide ainsi que de la biomasse microbienne.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

La minéralisation du carbone des litières foliaires de *Jatropha* en condition contrôlée suit le modèle de décomposition double exponentiel. Les pourcentages de carbone récalcitrant des feuilles de *Jatropha* varient entre 70,01 % et 73,33 % du carbone total pour les feuilles fraîches et entre 72 % et 77,33 % pour les feuilles sénescents. Ainsi, une grande partie du carbone provenant des résidus de *Jatropha* se décompose très lentement et pourraient fournir un carbone relativement stable au sol. Cependant, nos expérimentations sur la minéralisation des litières foliaires de *Jatropha* ont été effectuées dans des conditions de laboratoire et mériteraient d'être approfondies par une étude en serre et sur le terrain. Les teneurs en azote des feuilles de *Jatropha* contrôlent la disponibilité de l'ammonium dans les sols dans les étapes initiales de la décomposition. Cependant, la teneur en lignine explique les variations des ions NH_4^+ à long terme. Les feuilles de *Jatropha* montrent des différences de composition biochimique entre les différentes provenances. Les litières foliaires de *Jatropha* des provenances Banfadjiré et Tanzanie ont ainsi des teneurs en carbone plus élevées que celles des provenances Madiop Boye et Mozambique.

La différence de la qualité biochimique entre feuilles fraîches et sénescents de *Jatropha* n'influence que la structure du phylum des Firmicutes. Cependant, la diversité et la richesse spécifique des communautés bactériennes sont influencées par la provenance des plants de *Jatropha*. Dans les étapes avancées du processus de minéralisation des feuilles de *Jatropha* dans les sols, nous avons observé une augmentation de la dominance des Firmicutes entraînant ainsi une diminution de la diversité avec le temps. Dans notre étude, la décomposition rapide des composés facilement dégradables (élevés avec les feuilles fraîches) des résidus de *Jatropha* est assurée par les membres des phyla des Protéobactéria et des Actinobactéria et explique l'augmentation de l'activité respiratoire observée aussi par d'autres auteurs durant les premières semaines qui suivent l'incorporation des résidus organiques dans les sols. Cependant, les Firmicutes sont plus abondants dans les étapes avancées du processus de décomposition des litières foliaires de *Jatropha*. L'analyse de la dynamique, de la diversité et de la structure des communautés microbiennes par les méthodes de séquençage à haut débit est plus appropriée que celles utilisant les méthodes d'empreinte génétique. Les diversités de Shannon sont plus élevées avec les méthodes de séquençage d'ADN à haut débit. Cette diversité augmente avec la teneur en lignine des feuilles quelle que soit la provenance de *Jatropha*.

La rhizosphère de la provenance Lompoul présente la diversité alpha la plus faible, mais une amélioration de la teneur en azote et des autres paramètres biologiques (biomasse microbienne et activités de la Béta-glu et de la Phosphatase acide) est obtenue avec la culture de cette provenance. Ainsi, la provenance Lompoul entraîne une augmentation rhizosphérique de l'activité microbienne, mais une diminution de la diversité bactérienne étudiée par les techniques de séquençage à haut débit. Les sols rhizosphériques des plantes exotiques de *Jatropha* provenant d'Inde de Mozambique et de Tanzanie ont des diversités de Shannon supérieures à ceux des provenances locales.

Jatropha curcas L. est une plante qui n'exerce pas d'influence négative sur les propriétés biologiques des sols, mais au contraire améliore ces caractéristiques. En revanche, il ne faut pas s'attendre à d'importants effets d'amélioration comme on pourrait l'avoir avec d'autres plantes.

*PERSPECTIVES

Nos analyses métagénomiques se sont limitées à la communauté des bactéries identifiant les principaux phyla intervenant dans la décomposition des litières foliaires de *Jatropha* et présents dans sa rhizosphère. Cependant, le rôle des champignons sur la décomposition de la litière de *Jatropha* reste à être élucidé surtout dans la minéralisation des parties récalcitrantes. Ainsi, il conviendrait d'effectuer une étude métagénomique des communautés fongiques des sols cultivés avec *Jatropha*.

Un approfondissement de l'exploration de nos données de séquençage pour la détection d'espèces bactériennes d'intérêt surtout des espèces rares sera effectué. Nous envisageons aussi d'effectuer une étude sur la diversité, la structure et l'activité des communautés microbiennes aux différents stades de développement de *Jatropha* (après semis, à la montaison, à la floraison et à la récolte) pour mieux comprendre la dynamique des caractéristiques biologiques durant le cycle de développement de la plante.

Une étude sur l'impact des tourteaux et de leur association avec les litières de *Jatropha* sur les paramètres agronomiques de *Jatropha* lui-même ainsi que sur les caractéristiques chimiques des sols et sur la dynamique microbienne est également envisagée. Les résultats dans ces expérimentations pourraient contribuer à une meilleure valorisation des tourteaux de

Jatropha pour leur utilisation à long terme sur des plantations à grande échelle de Jatropha lui-même pour une production de biocarburant.

***RECOMMANDATIONS**

Dans notre étude, les sols cultivés avec la provenance locale de Jatropha nommée Lompoul présentent les meilleures qualités ; nous recommandons ainsi une utilisation de cette provenance et des provenances locales mieux adaptées aux conditions pédoclimatiques locales dans les champs de plantation de Jatropha. Cependant, la productivité des plantes est également à prendre en compte dans le cadre de plantations à grande échelle pour d'éventuelles productions de biocarburant.

Nous suggérons également l'utilisation de litières foliaires de Jatropha en tant que paillage car ces litières permettent une amélioration de la qualité des sols et participent également au stockage du carbone.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbasi**, M.K. and Adams, W.A. (2000). Estimation of simultaneous nitrification and denitrification in grassland soil associated with urea-N using ^{15}N and nitrification inhibitor. *Biol. Fertil. Soils* **31**: 38–44.
- Abhilash**, P.C., Srivastava, P., Jamil, S., and Singh, N. (2011). Revisited *Jatropha curcas* as an oil plant of multiple benefits: critical research needs and prospects for the future. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **18**: 127–131.
- Abugre**, S., Oti-Boateng, C., and Yeboah, M. (2011). Litter fall and decomposition trend of *Jatropha curcas* L. leaves mulches under two environmental conditions. *Agric. Biol. J. N. Am.* **2**: 462–470.
- Achten**, W.M.J., Mathijs, E., Verchot, L., Singh, V.P., Aerts, R., and Muys, B. (2007). *Jatropha* biodiesel fueling sustainability? *Biofuels Bioprod. Biorefining* **1**: 283–291.
- Agarwal**, P., Singh, S., Mastan, S.G., Vijayanand, K.G., Agarwal, P.K., and Ghosh, A. (2015). Soil microbial diversity shift as affected by conversion of shallow and rocky wastelands to *Jatropha curcas* L. plantation. *Int. J. Environ. Stud.* **72**: 631–649.
- Allison**, S.D. (2012). A trait-based approach for modelling microbial litter decomposition. *Ecol. Lett.* **15**: 1058–1070.
- Allison**, S.D. and Vitousek, P.M. (2004). Extracellular enzyme activities and carbon chemistry as drivers of tropical plant litter decomposition. *Biotropica* **36**: 285–296.
- Amato**, M. and Ladd, J.N. (1988). Assay for microbial biomass based on ninhydrin-reactive nitrogen in extracts of fumigated soils. *Soil Biol. Biochem.* **20**: 107–114.
- Amigun**, B., Musango, J.K., and Stafford, W. (2011). Biofuels and sustainability in Africa. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **15**: 1360–1372.
- Aneja**, M.K., Sharma, S., Fleischmann, F., Stich, S., Heller, W., Bahnweg, G., et al. (2006). Microbial colonization of beech and spruce litter—influence of decomposition site and plant litter species on the diversity of microbial community. *Microb. Ecol.* **52**: 127–135.
- Archer**, A. (2015) The Use Of *Jatropha curcas* To Achieve A Self Sufficient Water Distribution System: A Case Study In Rural Senegal. Master’s Thesis In Environmental Engineering. Michigan Technological University. Accessible en ligne: <https://www.mtu.edu/peacecorps/programs/civil/pdfs/alexandra-archer-thesis-final.pdf>
- Arriaga**, L. and Maya, Y. (2007). Spatial Variability in Decomposition Rates in a Desert Scrub of Northwestern Mexico. *Plant Ecol.* **189**: 213–225.
- Arrouays**, D., Feller, C., Jolivet, C., Saby, N., Andreux, F., Bernoux, M., and Cerri, C. (2003). Estimation de stocks de carbone organique des sols à différentes échelles d’espace et de temps. *Etude Gest. Sols* **10**: 347–54.
- Assogbadjo**, A., Amadji, G., Kakaï, R., Mama, A., Sinsin, B., and Damme, P. van (2009). Evaluation écologique et ethnobotanique de *Jatropha curcas* L. au Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* **3**: 1065–1077.
- Aubert**, G., Ollat, C., and Pinta, M. (1954). Méthodes d’analyses utilisées actuellement aux laboratoires des sols de l’IDERT. In, *Conférence interafricaine des sols*. Ministère des Colonies, Bruxelles, pp. 1267–1276.
- Augustus**, G.D.P.S., Jayabalan, M., and Seiler, G.J. (2002). Evaluation and bioinduction of energy components of *Jatropha curcas*. *Biomass Bioenergy* **23**: 161–164.
- Austin**, A.T. and Vivanco, L. (2006). Plant litter decomposition in a semi-arid ecosystem controlled by photodegradation. *Nature* **442**: 555–558.
- Azeez**, J.O. and Van Averbek, W. (2010). Nitrogen mineralization potential of three animal manures applied on a sandy clay loam soil. *Bioresour. Technol.* **101**: 5645–5651.

- Balesdent, J.** (1996). Un point sur l'évolution des réserves organiques des sols en France. *Etude Gest. Sols* **3**: 245–260.
- Barbhuiya, A.R., Arunachalam, A., Chandra Nath, P., Latif Khan, M., and Arunachalam, K.** (2008). Leaf litter decomposition of dominant tree species of Namdapha National Park, Arunachal Pradesh, northeast India. *J. For. Res.* **13**: 25–34.
- Barrios, E.** (2007). Soil biota, ecosystem services and land productivity. *Ecol. Econ.* **64**: 269–285.
- Bationo, A. and Buerkert, A.** (2001). Soil organic carbon management for sustainable land use in Sudano-Sahelian West Africa. *Nutr. Cycl. Agroecosystems* **61**: 131–142.
- Bationo, A., Kihara, J., Vanlauwe, B., Waswa, B., and Kimetu, J.** (2007). Soil organic carbon dynamics, functions and management in West African agro-ecosystems. *Agric. Syst.* **94**: 13–25.
- Baumann, K., Marschner, P., Kuhn, T.K., Smernik, R.J., and Baldock, J.A.** (2011). Microbial community structure and residue chemistry during decomposition of shoots and roots of young and mature wheat (*Triticum aestivum* L.) in sand. *Eur. J. Soil Sci.* **62**: 666–675.
- Behera, S.K., Srivastava, P., Tripathi, R., Singh, J.P., and Singh, N.** (2010). Evaluation of plant performance of *Jatropha curcas* L. under different agro-practices for optimizing biomass – A case study. *Biomass Bioenergy* **34**: 30–41.
- Bernhard-Reversat, F.** (1972). Décomposition de la litière de feuilles en forêt ombrophile de basse Côte d'Ivoire. *Écol. Plant* **7**: 279–300.
- Bernoux, M., Feller, C., Eschenbrenner, V., Cerri, C.C., and Cerri, C.E.P.** (2004). Séquestration du carbone dans le sol. *Bull. Réseau Eros.* **22**: 29–42.
- Beyaert, R. and Paul Voroney, R.** (2011). Estimation of decay constants for crop residues measured over 15 years in conventional and reduced tillage systems in a coarse-textured soil in southern Ontario. *Can. J. Soil Sci.* **91**: 985–995.
- Brankatschk, R., Töwe, S., Kleineidam, K., Schloter, M., and Zeyer, J.** (2011). Abundances and potential activities of nitrogen cycling microbial communities along a chronosequence of a glacier forefield. *ISME J.* **5**: 1025–1037.
- Bray, S.R., Kitajima, K., and Mack, M.C.** (2012). Temporal dynamics of microbial communities on decomposing leaf litter of 10 plant species in relation to decomposition rate. *Soil Biol. Biochem.* **49**: 30–37.
- Bremner, J.M.** (1965). Inorganic forms of nitrogen. *Methods Soil Anal. Part 2 Chem. Microbiol. Prop.* **9**: 1179–1237.
- Bruggeman, P.G., Fakambi, K., Fauveaud, S., Liagre, L., Maïga, A.H., and others** (2010). Proximity biofuels commodity chain based on *Jatropha* production: opportunities, first results and points of attention to improve energy access in rural areas in Western Africa. *Sud Sci. Technol.* **19/20**: 107–118.
- Brzostek, E.R., Greco, A., Drake, J.E., and Finzi, A.C.** (2013). Root carbon inputs to the rhizosphere stimulate extracellular enzyme activity and increase nitrogen availability in temperate forest soils. *Biogeochemistry* **115**: 65–76.
- Calvet, R.** (2003). Le sol: propriétés et fonctions. France Agricole Editions.
- Caporaso, J.G., Lauber, C.L., Walters, W.A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C.A., Turnbaugh, P.J., et al.** (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **108**: 4516–4522.
- Caravaca, F., Alguacil, M.M., Torres, P., and Roldán, A.** (2005). Plant type mediates rhizospheric microbial activities and soil aggregation in a semiarid Mediterranean salt marsh. *Geoderma* **124**: 375–382.

- Charoenpakdee, S., Cherdchai, P., Dell, B., and Lumyong, S.** (2010). The mycorrhizal status of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi of physic nut *Jatropha curcas* in Thailand. *Mycosphere* **1**: 167–181.
- Chaudhary, D.R., Chikara, J., and Ghosh, A.** (2014). Carbon and nitrogen mineralization potential of biofuel crop (*Jatropha curcas* L.) residues in soil. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* **14**: 15–30.
- Chaudhary, D.R., Gautam, R.K., Ghosh, A., Chikara, J., and Jha, B.** (2015). Effect of Nitrogen Management on Soil Microbial Community and Enzymatic Activities in *Jatropha curcas* L. Plantation. *CLEAN – Soil Air Water* **43**: 1058–1065.
- Chaudhary, D.R., Lorenz, N., Dick, L.K., and Dick, R.P.** (2011). FAME Profiling and Activity of Microbial Communities During *Jatropha curcas* L. Residue Decomposition in Semiarid Soils: *Soil Sci.* **176**: 625–633.
- Chaudhary, D.R., Saxena, J., Lorenz, N., Dick, L.K., and Dick, R.P.** (2012). Microbial Profiles of Rhizosphere and Bulk Soil Microbial Communities of Biofuel Crops Switchgrass (*Panicum virgatum* L.) and *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.). *Appl. Environ. Soil Sci.* **2012**: 1–6.
- Clark, I.M., Buchkina, N., Jhurrea, D., Goulding, K.W.T., and Hirsch, P.R.** (2012). Impacts of nitrogen application rates on the activity and diversity of denitrifying bacteria in the Broadbalk Wheat Experiment. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **367**: 1235–1244.
- Cleveland, C.C., Nemergut, D.R., Schmidt, S.K., and Townsend, A.R.** (2006). Increases in soil respiration following labile carbon additions linked to rapid shifts in soil microbial community composition. *Biogeochemistry* **82**: 229–240.
- Cleveland, C.C., Reed, S.C., Keller, A.B., Nemergut, D.R., O’Neill, S.P., Ostertag, R., and Vitousek, P.M.** (2013). Litter quality versus soil microbial community controls over decomposition: a quantitative analysis. *Oecologia* **174**: 283–294.
- Couteaux, M.M., Bottner, P., and Berg, B.** (1995). Litter decomposition, climate and litter quality. *Trends Ecol. Evol.* **10**: 63–66.
- D’Anteo, S., Mannucci, A., Meliani, M., Verni, F., Petroni, G., Munz, G., et al.** (2015). Nitrifying biomass characterization and monitoring during bioaugmentation in a membrane bioreactor. *Environ. Technol.* **0**: 1–8.
- Daudet, M.M.S., Mergeai, G., Baudoin, J.P., and Toussaint, A.** (2011). Culture in vitro de *Jatropha curcas* L. *Biotechnol Agron Soc Env.* **15**: 567–574.
- Davidson, E.A. and Janssens, I.A.** (2006). Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature* **440**: 165–173.
- DeAngelis, K.M., Allgaier, M., Chavarria, Y., Fortney, J.L., Hugenholtz, P., Simmons, B., et al.** (2011). Characterization of trapped lignin-degrading microbes in tropical forest soil. *PLoS One* **6**: e19306.
- DeAngelis, K.M., Chivian, D., Fortney, J.L., Arkin, A.P., Simmons, B., Hazen, T.C., and Silver, W.L.** (2013). Changes in microbial dynamics during long-term decomposition in tropical forests. *Soil Biol. Biochem.* **66**: 60–68.
- De Raissac, M., Marnotte, P., and Alphonse, S.** (1998). Interactions entre plantes de couverture, mauvaises herbes et cultures : quelle est l’importance de l’allélopathie ? *Agric. Dév.* **17**: 40–49.
- Delgado, S., Rachid, C.T.C.C., Fernández, E., Rychlik, T., Alegría, Á., Peixoto, R.S., and Mayo, B.** (2013). Diversity of thermophilic bacteria in raw, pasteurized and selectively-cultured milk, as assessed by culturing, PCR-DGGE and pyrosequencing. *Food Microbiol.* **36**: 103–111.
- Derra, S.** (2014). Déterminants de l’innovation technologique sur la biomasse agricole : cas du *Jatropha curcas* au Burkina Faso. Thèse de doctorat, Centre international d’études

- supérieures en sciences agronomiques, Montpellier. Accessible en ligne : http://agritrop.cirad.fr/575632/1/document_575632.pdf
- DeSantis**, T.Z., Hugenholtz, P., Larsen, N., Rojas, M., Brodie, E.L., Keller, K., et al. (2006). Greengenes, a Chimera-Checked 16S rRNA Gene Database and Workbench Compatible with ARB. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**: 5069–5072.
- Dia**, D., Sakho-Jimbira, M.S., Fall, C.S., Ndour, A., and Dieye, P.N. (2010). Crise énergétique et recomposition de l'espace agricole au Sénégal: cultures traditionnelles vs biocarburants? *Sud Sci. Technol.* 69–80.
- Diack**, M., Sene, M., Badiane, A.N., Diatta, M., and Dick, R.P. (2000). Decomposition of a Native Shrub, *Piliostigma reticulatum*, Litter in Soils of Semiarid Senegal. *Arid Soil Res. Rehabil.* **14**: 205–218.
- Diédhiou**, I., Diédhiou, P.M., Ndir, K., Bayala, R., Ouattara, B., Mbaye, B., et al. (2012). Diversity, Farming Systems, Growth and Productivity of *Jatropha curcas* L. in the Sudano-Sahelian Zone of Senegal, West Africa. In, *Jatropha, Challenges for a New Energy Crop*. Springer, pp. 281–295.
- Diédhiou**, I., Sambou, Y.S., Sagna, M.D., and Diédhiou, P.M. (2016). Genetic Parameters for Fruits, Seeds and Oil Content Traits of *Jatropha curcas* L. in a Semi-arid Region of Senegal. *Am. J. Exp. Agric.* **11**: 1–11.
- Dieng**, A., Duponnois, R., Floury, A., Laguerre, G., Ndoye, I., and Baudoin, E. (2015). Impact of the energy crop *Jatropha curcas* L. on the composition of rhizobial populations nodulating cowpea (*Vigna unguiculata* L.) and acacia (*Acacia seyal* L.). *Syst. Appl. Microbiol.* **38**: 128–134.
- Dieng**, A., Ndoye, I., Duponnois, R., and Baudoin, E. (2014). Effects of *Jatropha curcas* L. plantation on soil bacterial and fungal communities. *Soil Biol. Biochem.* **72**: 105–115.
- Dieye**, T., Assigbetse, K., Diedhiou, I., Sembene, M., Dieng, A.L., Gueye, M., and Masse, D. (2016). The effect of *Jatropha curcas* L. leaf litter decomposition on soil carbon and nitrogen status and bacterial community structure (Senegal). *J. Soil Sci. Environ. Manag.* **7**: 32–44.
- Dilly**, O., Bloem, J., Vos, A., and Munch, J.C. (2004). Bacterial diversity in agricultural soils during litter decomposition. *Appl. Environ. Microbiol.* **70**: 468–474.
- Domergue**, M. and Pirot, R. (2008). *Jatropha curcas* L. Rapport de synthèse bibliographique. Montpellier, France: CIRAD, 118p.
- Dorr de Quadros**, P., Zhalnina, K., Davis-Richardson, A., Fagen, J.R., Drew, J., Bayer, C., et al. (2012). The Effect of Tillage System and Crop Rotation on Soil Microbial Diversity and Composition in a Subtropical Acrisol. *Diversity* **4**: 375–395.
- Dossa**, E.L., Khouma, M., Diedhiou, I., Sene, M., Kizito, F., Badiane, A.N., et al. (2009). Carbon, nitrogen and phosphorus mineralization potential of semiarid Sahelian soils amended with native shrub residues. *Geoderma* **148**: 251–260.
- DuPont**, S.T., Beniston, J., Glover, J.D., Hodson, A., Culman, S.W., Lal, R., and Ferris, H. (2014). Root traits and soil properties in harvested perennial grassland, annual wheat, and never-tilled annual wheat. *Plant Soil* **381**: 405–420.
- Eijck**, J. van, Smeets, E., and Faaij, A. (2012). *Jatropha*: A Promising Crop for Africa's Biofuel Production? In, Janssen, R. and Rutz, D. (eds), *Bioenergy for Sustainable Development in Africa*. Springer Netherlands, pp. 27–40.
- Enda ENERGIE** (2010). « Cartographie agro-environnementale du potentiel de production de biocarburant au Sénégal », programme Energie Environnement et développement Enda-TM., PNUE.

- Enwall, K., Philippot, L., and Hallin, S. (2005).** Activity and Composition of the Denitrifying Bacterial Community Respond Differently to Long-Term Fertilization. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**: 8335–8343.
- Esperschütz, J., Zimmermann, C., Dümig, A., Welzl, G., Buegger, F., Elmer, M., et al. (2013).** Dynamics of microbial communities during decomposition of litter from pioneering plants in initial soil ecosystems. *Biogeosciences* **10**: 5115–5124.
- Favretto, N., Stringer, L.C., and Dougill, A.J. (2014).** Unpacking livelihood challenges and opportunities in energy crop cultivation: perspectives on *Jatropha curcas* projects in Mali. *Geogr. J.* **180**: 365–376.
- Fierer, N., Bradford, M.A., and Jackson, R.B. (2007).** Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology* **88**: 1354–1364.
- Fierer, N., Lauber, C.L., Ramirez, K.S., Zaneveld, J., Bradford, M.A., and Knight, R. (2012).** Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients. *ISME J.* **6**: 1007–1017.
- Fierer, N. and Schimel, J.P. (2002).** Effects of drying–rewetting frequency on soil carbon and nitrogen transformations. *Soil Biol. Biochem.* **34**: 777–787.
- Fioretto, A., Papa, S., Curcio, E., Sorrentino, G., and Fuggi, A. (2000).** Enzyme dynamics on decomposing leaf litter of *Cistus incanus* and *Myrtus communis* in a Mediterranean ecosystem. *Soil Biol. Biochem.* **32**: 1847–1855.
- Fischer, S.G. and Lerman, L.S. (1979).** Length-independent separation of DNA restriction fragments in two-dimensional gel electrophoresis. *Cell* **16**: 191–200.
- Fontaine, S., Mariotti, A., and Abbadie, L. (2003).** The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biol. Biochem.* **35**: 837–843.
- Frank, D.A., Groffman, P.M., Evans, R.D., and Tracy, B.F. (2000).** Ungulate stimulation of nitrogen cycling and retention in Yellowstone Park grasslands. *Oecologia* **123**: 116–121.
- Galimanas, V., Hall, M.W., Singh, N., Lynch, M.D.J., Goldberg, M., Tenenbaum, H., et al. (2014).** Bacterial community composition of chronic periodontitis and novel oral sampling sites for detecting disease indicators. *Microbiome* **2**: 1–13.
- Gardes, M. and Bruns, T.D. (1993).** ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol. Ecol.* **2**: 113–118.
- Giraudel, J.L. and Lek, S. (2001).** A comparison of self-organizing map algorithm and some conventional statistical methods for ecological community ordination. *Ecol. Model.* **146**: 329–339.
- Girvan, M.S., Bullimore, J., Pretty, J.N., Osborn, A.M., and Ball, A.S. (2003).** Soil Type Is the Primary Determinant of the Composition of the Total and Active Bacterial Communities in Arable Soils. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**: 1800–1809.
- Gobet, A., Boetius, A., and Ramette, A. (2014).** Ecological coherence of diversity patterns derived from classical fingerprinting and Next Generation Sequencing techniques. *Environ. Microbiol.* **16**: 2672–2681.
- Gour, V.K. (2006).** Production practices including post harvest management of *Jatropha curcas*. In, *Proceedings of the biodiesel conference toward energy independance-Focus of Jatropha, Hyderabad, India.*, pp. 223–251.
- Grall, J. and Coïc, N. (2006).** Synthèse des méthodes d'évaluation de la qualité du benthos en milieu côtier. REF. Ifremer DYNECO/VIGIES/06-13/REBENT.
- Hammer, K. and Heller, J. (1998).** Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. *Schriften Zu Genet. Ressourcen* **8**: 223–227.
- Hartmann, A., Schmid, M., Tuinen, D. van, and Berg, G. (2008).** Plant-driven selection of microbes. *Plant Soil* **321**: 235–257.

- Hättenschwiler**, S., Aeschlimann, B., Coûteaux, M.-M., Roy, J., and Bonal, D. (2008). High variation in foliage and leaf litter chemistry among 45 tree species of a neotropical rainforest community. *New Phytol.* **179**: 165–175.
- Hättenschwiler**, S., Tiunov, A.V., and Scheu, S. (2005). Biodiversity and litter decomposition in terrestrial ecosystems. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 191–218.
- Hayano**, K. (1973). A method for the determination of β -glucosidase activity in soil. *Soil Sci. Plant Nutr.* **19**: 103–108.
- Herman**, D.J., Johnson, K.K., Jaeger, C.H., Schwartz, E., and Firestone, M.K. (2006). Root Influence on Nitrogen Mineralization and Nitrification in Rhizosphere Soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **70**: 1504.
- Hill**, G.T., Mitkowski, N.A., Aldrich-Wolfe, L., Emele, L.R., Jurkonie, D.D., Ficke, A., *et al.* (2000). Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. *Appl. Soil Ecol.* **15**: 25–36.
- Högberg**, M.N., Högberg, P., and Myrold, D.D. (2007). Is microbial community composition in boreal forest soils determined by pH, C-to-N ratio, the trees, or all three? *Oecologia* **150**: 590–601.
- Hout**, M.C., Papesh, M.H., and Goldinger, S.D. (2013). Multidimensional scaling. *Wiley Interdiscip. Rev. Cogn. Sci.* **4**: 93–103.
- Hu**, S.J., van Bruggen, A.H.C., and Grünwald, N.J. (1999). Dynamics of bacterial populations in relation to carbon availability in a residue-amended soil. *Appl. Soil Ecol.* **13**: 21–30.
- Hunter**, M.D., Adl, S., Pringle, C.M., and Coleman, D.C. (2003). Relative effects of macroinvertebrates and habitat on the chemistry of litter during decomposition. *Pedobiologia* **47**: 101–115.
- Jobbágy**, E.G. and Jackson, R.B. (2000). The vertical distribution of soil organic carbon and its relation to climate and vegetation. *Ecol. Appl.* **10**: 423–436.
- Jones**, D.L. and Oburger, E. (2011). Solubilization of Phosphorus by Soil Microorganisms. In, Bünemann, E., Oberson, A., and Frossard, E. (eds), *Phosphorus in Action*, Soil Biology. Springer Berlin Heidelberg, pp. 169–198.
- Jumbe**, C.B.L. and Mkondiwa, M. (2013). Comparative analysis of biofuels policy development in Sub-Saharan Africa: The place of private and public sectors. *Renew. Energy* **50**: 614–620.
- Kandeler**, E. and Gerber, H. (1988). Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biol. Fertil. Soils* **6**: 68–72.
- Karlen**, D.L., Mausbach, M.J., Doran, J.W., Cline, R.G., Harris, R.F., and Schuman, G.E. (1997). Soil Quality: A Concept, Definition, and Framework for Evaluation (A Guest Editorial). *Soil Sci. Soc. Am. J.* **61**: 4–10.
- Khouma**, M. (2002). Les grands types de sols du Senegal. *Rapport sur les Ressources en Sols du Monde (FAO)*.
- Kim**, M., Kim, W.-S., Tripathi, B.M., and Adams, J. (2014). Distinct Bacterial Communities Dominate Tropical and Temperate Zone Leaf Litter. *Microb. Ecol.* **67**: 837–848.
- Knief**, C., Delmotte, N., Chaffron, S., Stark, M., Innerebner, G., Wassmann, R., *et al.* (2012). Metaproteogenomic analysis of microbial communities in the phyllosphere and rhizosphere of rice. *ISME J.* **6**: 1378–1390.
- Koch**, A.L. (2001). Oligotrophs versus copiotrophs. *BioEssays* **23**: 657–661.
- Koranda**, M., Schneckler, J., Kaiser, C., Fuchslueger, L., Kitzler, B., Stange, C.F., *et al.* (2011). Microbial processes and community composition in the rhizosphere of European beech – The influence of plant C exudates. *Soil Biol. Biochem.* **43**: 551–558.
- Kowalchuk**, G.A., Stephen, J.R., Boer, W.D., Prosser, J.I., Embley, T.M., and Woldendorp, J.W. (1997). Analysis of ammonia-oxidizing bacteria of the beta subdivision of the class

- Proteobacteria in coastal sand dunes by denaturing gradient gel electrophoresis and sequencing of PCR-amplified 16S ribosomal DNA fragments. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**: 1489–1497.
- Kuzyakov, Y.** and Xu, X. (2013). Competition between roots and microorganisms for nitrogen: mechanisms and ecological relevance. *New Phytol.* **198**: 656–669.
- Lagomarsino, A.,** Moscatelli, M.C., Di Tizio, A., Mancinelli, R., Grego, S., and Marinari, S. (2009). Soil biochemical indicators as a tool to assess the short-term impact of agricultural management on changes in organic C in a Mediterranean environment. *Ecol. Indic.* **9**: 518–527.
- Lal, R.** (2004). Soil Carbon Sequestration Impacts on Global Climate Change and Food Security. *Science* **304**: 1623–1627.
- Lamoril, J.,** Ameziane, N., Deybach, J.-C., Bouizegarène, P., and Bogard, M. (2008). Les techniques de séquençage de l'ADN : une révolution en marche. Première partie. *Immuno-Anal. Biol. Spéc.* **23**: 260–279.
- Lauber, C.L.,** Strickland, M.S., Bradford, M.A., and Fierer, N. (2008). The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biol. Biochem.* **40**: 2407–2415.
- Lavelle, P.,** Decaëns, T., Aubert, M., Barot, S., Blouin, M., Bureau, F., *et al.* (2006). Soil invertebrates and ecosystem services. *Eur. J. Soil Biol.* **42**: S3–S15.
- Lecerf, A.** and Chauvet, E. (2008). Intraspecific variability in leaf traits strongly affects alder leaf decomposition in a stream. *Basic Appl. Ecol.* **9**: 598–605.
- Leland, H.V.,** Carter, J.L., and Fend, S.V. (1986). Use of detrended correspondence analysis to evaluate factors controlling spatial distribution of benthic insects. *Hydrobiologia* **131**: 113–123.
- Li, C.,** Yan, K., Tang, L., Jia, Z., and Li, Y. (2014). Change in deep soil microbial communities due to long-term fertilization. *Soil Biol. Biochem.* **75**: 264–272.
- Li, L.J.,** Zeng, D.H., Yu, Z.Y., Fan, Z.P., Yang, D., and Liu, Y.X. (2011). Impact of litter quality and soil nutrient availability on leaf decomposition rate in a semi-arid grassland of Northeast China. *J. Arid Environ.* **75**: 787–792.
- Li, X.,** Rui, J., Mao, Y., Yannarell, A., and Mackie, R. (2014). Dynamics of the bacterial community structure in the rhizosphere of a maize cultivar. *Soil Biol. Biochem.* **68**: 392–401.
- Lin, L.,** Cunshan, Z., Vittayapadung, S., Xiangqian, S., and Mingdong, D. (2011). Opportunities and challenges for biodiesel fuel. *Appl. Energy* **88**: 1020–1031.
- Lleò, M. m.,** Bonato, B., Tafi, M. c., Signoretto, C., Boaretti, M., and Canepari, P. (2001). Resuscitation rate in different enterococcal species in the viable but non-culturable state. *J. Appl. Microbiol.* **91**: 1095–1102.
- Lummer, D.,** Scheu, S., and Butenschon, O. (2012). Connecting litter quality, microbial community and nitrogen transfer mechanisms in decomposing litter mixtures. *Oikos* **121**: 1649–1655.
- Ma, W.K.,** Bedard-Haughn, A., Siciliano, S.D., and Farrell, R.E. (2008). Relationship between nitrifier and denitrifier community composition and abundance in predicting nitrous oxide emissions from ephemeral wetland soils. *Soil Biol. Biochem.* **40**: 1114–1123.
- Madritch, M.D.** and Hunter, M.D. (2003). Intraspecific litter diversity and nitrogen deposition affect nutrient dynamics and soil respiration. *Oecologia* **136**: 124–128.
- Maltsoglou, I.,** Koizumi, T., and Felix, E. (2013). The status of bioenergy development in developing countries. *Glob. Food Secur.* **2**: 104–109.
- Martínez-Herrera, J.,** Siddhuraju, P., Francis, G., Dávila-Ortíz, G., and Becker, K. (2006). Chemical composition, toxic/antimetabolic constituents, and effects of different

- treatments on their levels, in four provenances of *Jatropha curcas* L. from Mexico. *Food Chem.* **96**: 80–89.
- Mary**, B. and Guérif, J. (1994). Intérêts et limites des modèles de prévision de l'évolution des matières organiques et de l'azote dans le sol. *Cah. Agric.* **3**: 247–257.
- McCaig**, A.E., Grayston, S.J., Prosser, J.I., and Glover, L.A. (2001). Impact of cultivation on characterisation of species composition of soil bacterial communities. *FEMS Microbiol. Ecol.* **35**: 37–48.
- McMurdie**, P.J. and Holmes, S. (2012). Vignette for phyloseq: A Bioconductor package for handling and analysis of high-throughput phylogenetic sequence data.
- McMurdie**, P.J. and Holmes, S. (2013). phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PLoS ONE* **8**: e61217.
- Metay**, A., Mary, B., Arrouays, D., Labreuche, J., Martin, M., Nicolardot, B., and Germon, J.C. (2009). Effets des techniques culturales sans labour sur le stockage de carbone dans le sol en contexte climatique tempéré. *Can. J. Soil Sci.* **89**: 623–634.
- Miller**, M.N., Dandie, C.E., Zebarth, B.J., Burton, D.L., Goyer, C., and Trevors, J.T. (2012). Influence of carbon amendments on soil denitrifier abundance in soil microcosms. *Geoderma* **170**: 48–55.
- Moscatelli**, M.C., Lagomarsino, A., Garzillo, A.M.V., Pignataro, A., and Grego, S. (2012). β -Glucosidase kinetic parameters as indicators of soil quality under conventional and organic cropping systems applying two analytical approaches. *Ecol. Indic.* **13**: 322–327.
- Mostajir**, B., Amblard, C., Buffan-Dubau, E., De Wit, R., Lensi, R., and Sime-Ngando, T. (2012). Les réseaux trophiques microbiens des milieux aquatiques et terrestres. *JC Bertrand Al Press. Univ. Pau Pays Adour* 28.
- Mullis**, K.B., Faloona, F.A., Scharf, S.J., Saiki, R.K., Horn, G.T., Erlich, H., and others (1986). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. In, *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.*, pp. 263–273.
- Murphy**, J. and Riley, J.P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta* **27**: 31–36.
- Muyzer**, G., Waal, E.C. de, and Uitterlinden, A.G. (1993). Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**: 695–700.
- Nam**, Y.-D., Yi, S.-H., and Lim, S.-I. (2012). Bacterial diversity of cheonggukjang, a traditional Korean fermented food, analyzed by barcoded pyrosequencing. *Food Control* **28**: 135–142.
- Navas-Molina**, J.A., Peralta-Sánchez, J.M., González, A., McMurdie, P.J., Vázquez-Baeza, Y., Xu, Z., et al. (2013). Advancing Our Understanding of the Human Microbiome Using QIIME. In, *Methods in Enzymology*. Elsevier, pp. 371–444.
- Ndir**, K.N., Kane, M., Ouattara, B., Bayala, R., and Diedhiou, I. (2013). Variability in seed traits, oil content and genetic diversity in local and exotic accessions of *Jatropha curcas* L. in Senegal. *Afr. J. Biotechnol.* **12**: 5267–5277.
- Ndong**, R., Montrejaud-Vignoles, M., Saint Girons, O., Gabrielle, B., Pirot, R., Domergue, M., and Sablayrolles, C. (2009). Life cycle assessment of biofuels from *Jatropha curcas* in West Africa: a field study. *GCB Bioenergy* **1**: 197–210.
- Noble**, I. and Scholes, R.J. (2001). Sinks and the Kyoto Protocol. *Clim. Policy* **1**: 5–25.
- Ogunwole**, J.O., Chaudhary, D.R., Ghosh, A., Daudu, C.K., Chikara, J., and Patolia, J.S. (2008). Contribution of *Jatropha curcas* to soil quality improvement in a degraded Indian entisol. *Acta Agric. Scand. Sect. B — Soil Amp Plant Sci.* **58**: 245–251.

- Ong, H.C., Mahlia, T.M.I., Masjuki, H.H., and Norhasyima, R.S.** (2011). Comparison of palm oil, *Jatropha curcas* and *Calophyllum inophyllum* for biodiesel: A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **15**: 3501–3515.
- Openshaw, K.** (2000). A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. *Biomass Bioenergy* **19**: 1–15.
- Ouattara, B., Ndir, K.N., Gueye, M.C., Diédhiou, I., Barnaud, A., Fonceka, D., et al.** (2014). Genetic diversity of *Jatropha curcas* L. in Senegal compared with exotic accessions based on microsatellite markers. *Genet. Resour. Crop Evol.* **61**: 1039–1045.
- Pandey, V.C., Singh, K., Singh, J.S., Kumar, A., Singh, B., and Singh, R.P.** (2012). *Jatropha curcas*: A potential biofuel plant for sustainable environmental development. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **16**: 2870–2883.
- Pascault, N., Cécillon, L., Mathieu, O., Hénault, C., Sarr, A., Lévêque, J., et al.** (2010). In Situ Dynamics of Microbial Communities during Decomposition of Wheat, Rape, and Alfalfa Residues. *Microb. Ecol.* **60**: 816–828.
- Paterson, E.** (2003). Importance of rhizodeposition in the coupling of plant and microbial productivity. *Eur. J. Soil Sci.* **54**: 741–750.
- Patrício, M. do S., Nunes, L., and Pereira, E.** (2012). Litterfall and litter decomposition in chestnut high forest stands in northern Portugal. *For. Syst.* **21**: 259–271.
- Pfeiffer, B., Fender, A.-C., Lasota, S., Hertel, D., Jungkunst, H.F., and Daniel, R.** (2013). Leaf litter is the main driver for changes in bacterial community structures in the rhizosphere of ash and beech. *Appl. Soil Ecol.* **72**: 150–160.
- Poly, F., Ranjard, L., Nazaret, S., Gourbière, F., and Monrozier, L.J.** (2001). Comparison of nifH gene pools in soils and soil microenvironments with contrasting properties. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**: 2255–2262.
- Ramírez-Valiente, J.A., Sánchez-Gómez, D., Aranda, I., and Valladares, F.** (2010). Phenotypic plasticity and local adaptation in leaf ecophysiological traits of 13 contrasting cork oak populations under different water availabilities. *Tree Physiol.* **30**: 618–627.
- Razafimbelo, T.M., Albrecht, A., Basile, I., Borschneck, D., Bourgeon, G., Feller, C., et al.** (2006) Effet de différents systèmes de culture à couverture végétale sur le stockage du carbone dans un sol argileux des Hautes Terres de Madagascar. *Etude Gest. Sols* **13**: 113–127.
- Reddy, P.S., Rao, G.R., and Kumar, P.S.** (2015). Changes in soil organic carbon under bio-diesel plantations (*Jatropha curcas*). *Res. J. Agric. Environ. Sci.* **2**: 19–26.
- RFI** (2015) «4 pour 1000», le programme de stockage du carbone dans les sols. En ligne <http://www.rfi.fr/france/20151130-4-1000-programme-stockage-carbone-sols-cop21>, consulté le 17.01.2016.
- Rincon-Florez, V.A., Carvalhais, L.C., and Schenk, P.M.** (2013). Culture-Independent Molecular Tools for Soil and Rhizosphere Microbiology. *Diversity* **5**: 581–612.
- Romijn, H.A.** (2011). Land clearing and greenhouse gas emissions from *Jatropha* biofuels on African Miombo Woodlands. *Energy Policy* **39**: 5751–5762.
- Rousk, J., Bååth, E., Brookes, P.C., Lauber, C.L., Lozupone, C., Caporaso, J.G., et al.** (2010). Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *ISME J.* **4**: 1340–1351.
- Sahoo, N.K., Kumar, A., Sharma, S., and Naik, S.N.** (2009). Interaction of *Jatropha curcas* plantation with ecosystem. In, *Proc Int Conf Energy Environ.*, pp. 666–671.
- Sall, S.N.** (2004). Importance des relations “Résidus végétaux-Communautés microbienne” sur les processus de décomposition dans un sol ferrugineux tropical (Sénégal) : effet de la disponibilité de l’azote. Thèse de doctorat en Biochimie. Biologie moléculaire et cellulaire, Université Paris XII, Paris, 131 p.

- Sall**, S.N., Masse, D., Bernhard-Reversat, F., Guisse, A., and Chotte, J.-L. (2003). Microbial activities during the early stage of laboratory decomposition of tropical leaf litters: the effect of interactions between litter quality and exogenous inorganic nitrogen. *Biol. Fertil. Soils* **39**: 103–111.
- Sardans**, J. and Peñuelas, J. (2005). Drought decreases soil enzyme activity in a Mediterranean *Quercus ilex* L. forest. *Soil Biol. Biochem.* **37**: 455–461.
- Scheu**, S. and Parkinson, D. (1995). Successional changes in microbial biomass, respiration and nutrient status during litter decomposition in an aspen and pine forest. *Biol Fertil Soils* **19**: 327–332.
- Schimel**, J.P., Gullledge, J.M., Clein-Curley, J.S., Lindstrom, J.E., and Braddock, J.F. (1999). Moisture effects on microbial activity and community structure in decomposing birch litter in the Alaskan taiga. *Soil Biol. Biochem.* **31**: 831–838.
- Schmidt**, M.W.I., Torn, M.S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I.A., *et al.* (2011). Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature* **478**: 49–56.
- Schreiter**, S., Ding, G.-C., Heuer, H., Neumann, G., Sandmann, M., Grosch, R., *et al.* (2014). Effect of the soil type on the microbiome in the rhizosphere of field-grown lettuce. *Front. Microbiol.* **5**: 1–13.
- Sharma**, S.K., Ramesh, A., Sharma, M.P., Joshi, O.P., Govaerts, B., Steenwerth, K.L., and Karlen, D.L. (2011). Microbial Community Structure and Diversity as Indicators for Evaluating Soil Quality. In, Lichtfouse, E. (ed), *Biodiversity, Biofuels, Agroforestry and Conservation Agriculture*, Sustainable Agriculture Reviews. Springer Netherlands, pp. 317–358.
- Silitonga**, A.S., Atabani, A.E., Mahlia, T.M.I., Masjuki, H.H., Badruddin, I.A., and Mekhilef, S. (2011). A review on prospect of *Jatropha curcas* for biodiesel in Indonesia. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **15**: 3733–3756.
- Simonet**, P., Grosjean, M.C., Misra, A.K., Nazaret, S., Cournoyer, B., and Normand, P. (1991). *Frankia* genus-specific characterization by polymerase chain reaction. *Appl. Environ. Microbiol.* **57**: 3278–3286.
- Sims**, R.E.H. (2003). Bioenergy to mitigate for climate change and meet the needs of society, the economy and the environment. *Mitig. Adapt. Strateg. Glob. Change* **8**: 349–370.
- Singh**, K., Singh, B., and Tuli, R. (2013). Sodic soil reclamation potential of *Jatropha curcas*: A long-term study. *Ecol. Eng.* **58**: 434–440.
- Singh**, M.K. and Ghoshal, N. (2011). Impact of land use change on soil organic carbon content in dry tropics. *Plant Arch.* **11**: 903–906.
- Spedding**, T.A., Hamel, C., Mehuys, G.R., and Madramootoo, C.A. (2004). Soil microbial dynamics in maize-growing soil under different tillage and residue management systems. *Soil Biol. Biochem.* **36**: 499–512.
- Srivastava**, P., Kumar, A., Behera, S.K., Sharma, Y.K., and Singh, N. (2012). Soil carbon sequestration: an innovative strategy for reducing atmospheric carbon dioxide concentration. *Biodivers. Conserv.* **21**: 1343–1358.
- Srivastava**, P., Sharma, Y.K., and Singh, N. (2014). Soil carbon sequestration potential of *Jatropha curcas* L. growing in varying soil conditions. *Ecol. Eng.* **68**: 155–166.
- Staelens**, J., Ameloot, N., Almonacid, L., Padilla, E., Boeckx, P., Huygens, D., *et al.* (2011). Litterfall, litter decomposition and nitrogen mineralization in old-growth evergreen and secondary deciduous *Nothofagus* forests in south-central Chile. *Rev. Chil. Hist. Nat.* **84**: 125–141.
- Tabatabai**, M.A. and Bremner, J.M. (1969). Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.* **1**: 301–307.

- Tan, H., Barret, M., Mooij, M.J., Rice, O., Morrissey, J.P., Dobson, A., et al.** (2012). Long-term phosphorus fertilisation increased the diversity of the total bacterial community and the phoD phosphorus mineraliser group in pasture soils. *Biol. Fertil. Soils* **49**: 661–672.
- Tarr, C.L., Patel, J.S., Puhr, N.D., Sowers, E.G., Bopp, C.A., and Strockbine, N.A.** (2007). Identification of *Vibrio* Isolates by a Multiplex PCR Assay and *rpoB* Sequence Determination. *J. Clin. Microbiol.* **45**: 134–140.
- Terren, M., Jacquet de Haveskercke, P., Winandy, S., Mergeai, G., and others** (2012). Attempted cultivation of *Jatropha curcas* L. in the Lower Senegal River Valley: story of a failure. *Tropicultura* **30**: 204–208.
- Thiam, D.-R., Benders, R.M.J., and Moll, H.C.** (2012). Modeling the transition towards a sustainable energy production in developing nations. *Appl. Energy* **94**: 98–108.
- Throbäck, I.N., Enwall, K., Jarvis, Å., and Hallin, S.** (2004). Reassessing PCR primers targeting *nirS*, *nirK* and *nosZ* genes for community surveys of denitrifying bacteria with DGGE. *FEMS Microbiol. Ecol.* **49**: 401–417.
- Tieszen, L.L., Tappan, G.G., and Touré, A.** (2004). Sequestration of carbon in soil organic matter in Senegal: an overview. *J. Arid Environ.* **59**: 409–425.
- Tomaschek, J., Özdemir, E.D., Fahl, U., and Eltrop, L.** (2012). Greenhouse gas emissions and abatement costs of biofuel production in South Africa. *GCB Bioenergy* **4**: 799–810.
- Torres, P.A., Abril, A.B., and Bucher, E.H.** (2005). Microbial succession in litter decomposition in the semi-arid Chaco woodland. *Soil Biol. Biochem.* **37**: 49–54.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., and Lewis, B.A.** (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci. USA* **74**: 3583–3597.
- Varadharajan, A., WS, V., and Banerjee, R.** (2008). Energy analysis of biodiesel from *jatropha*. In, *World Renewable Energy Congress (WRECX) Editor A. Sayigh WREC, United Kingdom*, pp. 147-152
- Vauramo, S. and Setälä, H.** (2011). Decomposition of labile and recalcitrant litter types under different plant communities in urban soils. *Urban Ecosyst.* **14**: 59–70.
- Wahl, N., Jamnadass, R., Baur, H., Munster, C., and Iiyama, M.** (2009). Economic viability *Jatropha curcas* L. plantations in Northern Tanzania – Assessing farmers’ prospects via cost-benefit analysis. ICRAF Working Paper no. 97. Nairobi. World Agroforestry Centre.
- Wall, D.H. and Moore, J.C.** (1999). Interactions underground: soil biodiversity, mutualism, and ecosystem processes. *BioScience* **49**: 109–117.
- Wani, S.P., Chander, G., Sahrawat, K.L., Srinivasa Rao, C., Raghvendra, G., Susanna, P., and Pavani, M.** (2012). Carbon sequestration and land rehabilitation through *Jatropha curcas* (L.) plantation in degraded lands. *Agric. Ecosyst. Environ.* **161**: 112–120.
- Weisburg, W.G., Barns, S.M., Pelletier, D.A., and Lane, D.J.** (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J. Bacteriol.* **173**: 697–703.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J.** (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protoc. Guide Methods Appl.* **18**: 315–322.
- Whittaker, R.H.** (1960). Vegetation of the Siskiyou Mountains, Oregon and California. *Ecol. Monogr.* **30**: 279–338.
- Wider, R.K. and Lang, G.E.** (1982). A Critique of the Analytical Methods Used in Examining Decomposition Data Obtained From Litter Bags. *Ecology* **63**: 1636.
- Wommack, K.E., Bhavsar, J., and Ravel, J.** (2008). Metagenomics: Read Length Matters. *Appl. Environ. Microbiol.* **74**: 1453–1463.

- Woomer**, P.L., Touré, A., and Sall, M. (2004). Carbon stocks in Senegal's Sahel Transition Zone. *J. Arid Environ.* **59**: 499–510.
- Wright**, I.J. and Westoby, M. (2003). Nutrient concentration, resorption and lifespan: leaf traits of Australian sclerophyll species. *Funct. Ecol.* **17**: 10–19.
- Yang**, L., Takase, M., Zhang, M., Zhao, T., and Wu, X. (2014). Potential non-edible oil feedstock for biodiesel production in Africa: A survey. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **38**: 461–477.
- Yang**, Y., Wu, L., Lin, Q., Yuan, M., Xu, D., Yu, H., et al. (2013). Responses of the functional structure of soil microbial community to livestock grazing in the Tibetan alpine grassland. *Glob. Change Biol.* **19**: 637–648.
- Zhang**, M., Schaefer, D.A., Chan, O.C., and Zou, X. (2013). Decomposition differences of labile carbon from litter to soil in a tropical rain forest and rubber plantation of Xishuangbanna, southwest China. *Eur. J. Soil Biol.* **55**: 55–61.

ANNEXES

ANNEXES

ANNEXE 1 : Systématique de *Jatropha curcas* L.

<u>Règne</u>	<u>Plantae</u>
<u>Sous-règne</u>	<u>Tracheobionta</u>
<u>Division</u>	<u>Magnoliophyta</u>
<u>Classe</u>	<u>Magnoliopsida</u>
<u>Sous-classe</u>	<u>Rosidae</u>
<u>Ordre</u>	<u>Euphorbiales</u>
<u>Famille</u>	<u>Euphorbiaceae</u>
<u>Genre</u>	<u><i>Jatropha</i></u>

ANNEXE 2 : Réactifs utilisés pour le Van Sœst

- Sodium dodecyl sulfate, sel monosodique (lauryl sulfate de sodium), ($C_{12}H_{25}NaO_4$).
- Ethylène-diamine-tétra-acétate, sel disodique dihydraté (EDTA-Na), ($C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8, 2H_2O$)
- Tétraborate de sodium décahydraté, ($Na_2B_4O_7, 10H_2O$).
- Hydrogénophosphate, sel disodique anhydre, (Na_2HPO_4).
- Triéthylèneglycol, ($C_6H_{14}O_4$).
- Bromure d'Hexadécyltriméthylammonium bromure ($C_{19}H_{42}NBr$), (C.T.A.B).
- Acide sulfurique concentré, (H_2SO_4), $d = 1,84$.
- Acétone pur, (C_3H_6O).
- Octanol, anti-mousse reconnu sans influence sur la valeur des résultats.

Préparation des solutions

Solution au détergent neutre (NDF)

Dans un bêcher de 1 litre

- mettre 30 g de dodecyl sulfate de sodium dans 400 ml d'eau déminéralisée,
- agiter à l'aide d'un agitateur magnétique jusqu'à dissolution complète,
- ajouter à la solution 18,61 g d'EDTA-Na,
- ensuite 6,81 g de tétraborate de sodium,
- et enfin 4,56 g d'hydrogénophosphate de sodium,
- agiter le tout jusqu'à dissolution complète,

- transvaser dans une fiole jaugée de 1 litre,
- ajouter 10 ml de triéthylèneglycol,
- compléter à 1 L, mélanger pour bien homogénéiser
- vérifier que le pH se situe bien entre 6,9 et 7,1

Solution au détergent acide (ADF)

Dans une fiole jaugée de 1 L,

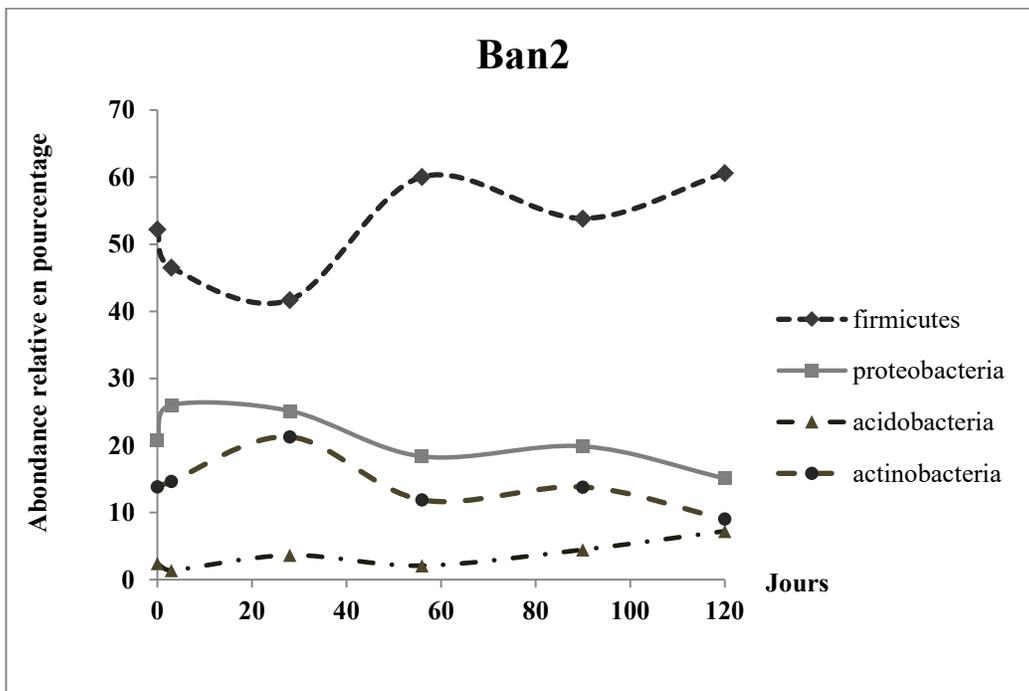
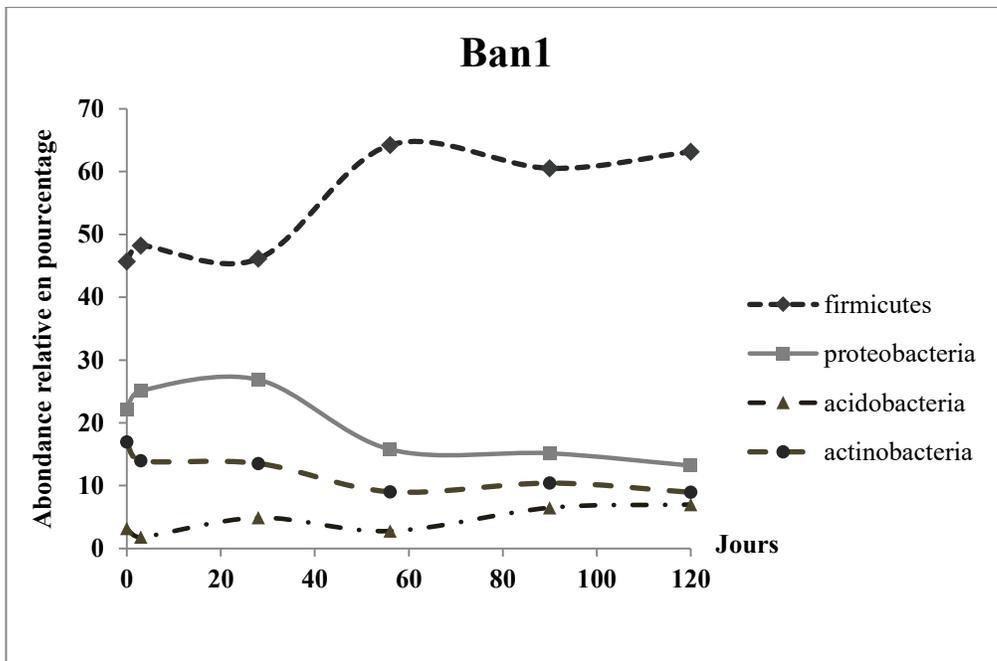
- mettre 800 ml d'eau déminéralisée,
- dissoudre dans l'eau 20 g de hexadecyltriméthylammonium bromure (CTAB),
- ajouter 26,7 ml d'acide sulfurique concentré,
- agiter à l'aide d'un agitateur magnétique jusqu'à dissolution complète,
- compléter à 1 litre et homogénéiser.

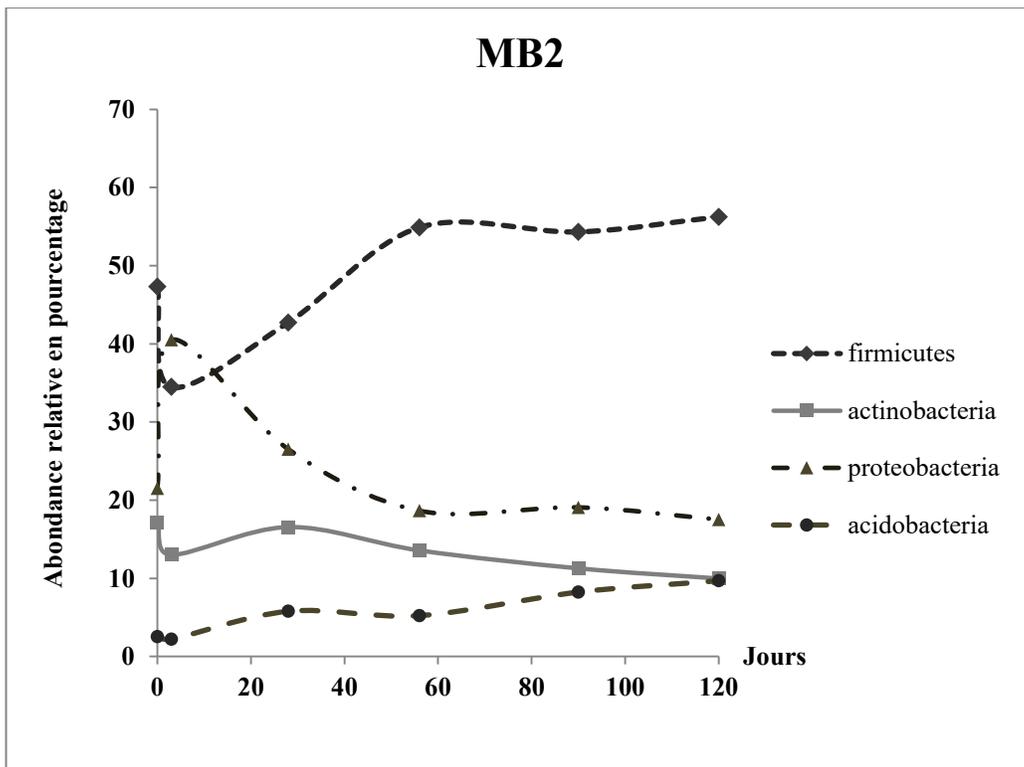
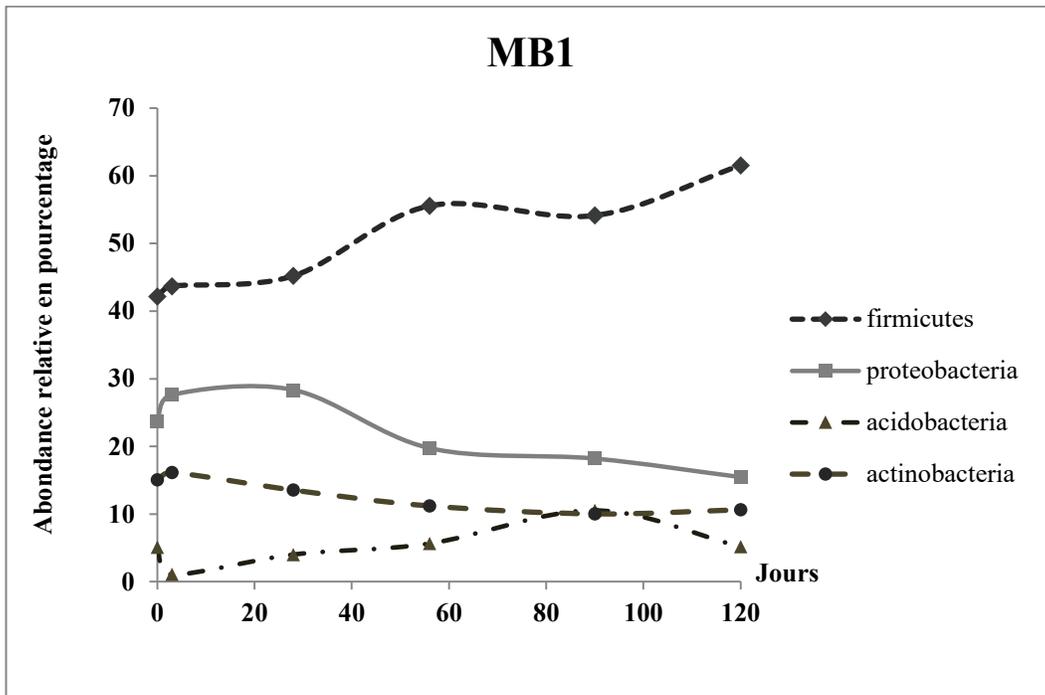
Réactif d'extraction acide ADLorg (H₂SO₄ 72%)

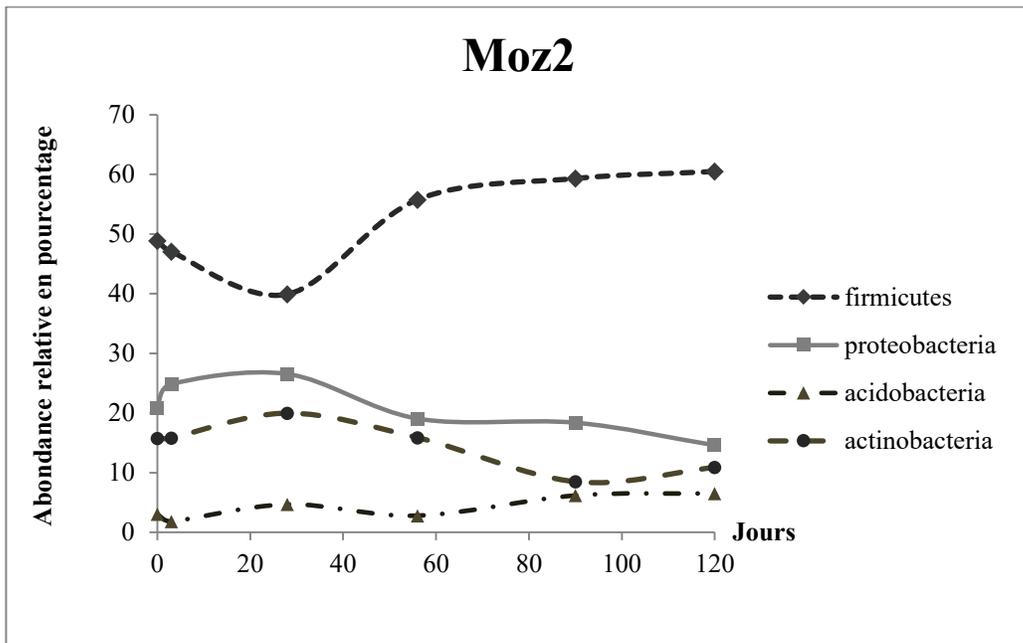
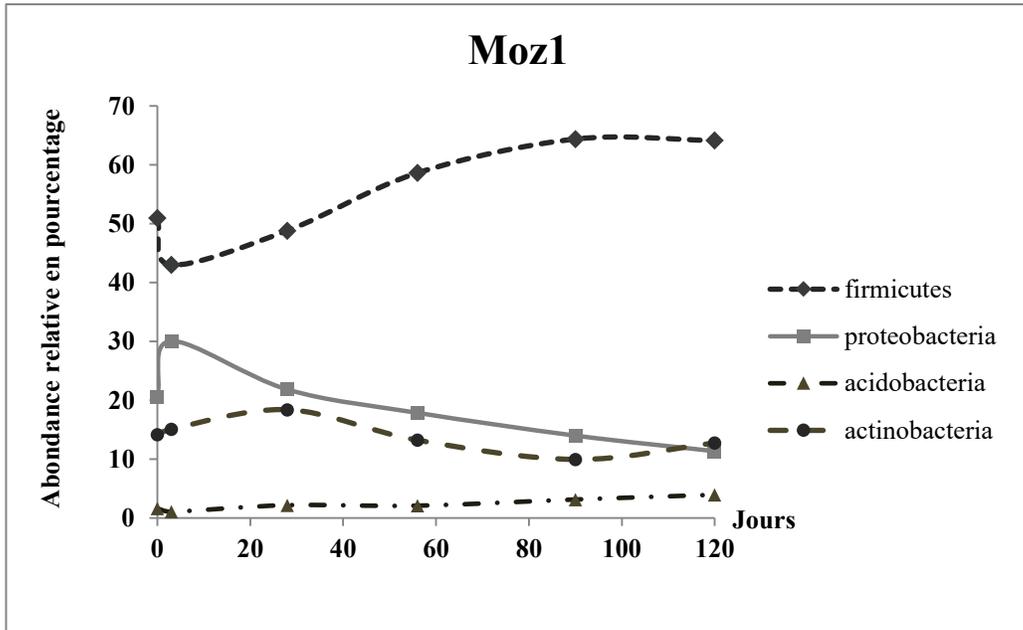
Dans un bêcher de 2 litres réfrigéré,

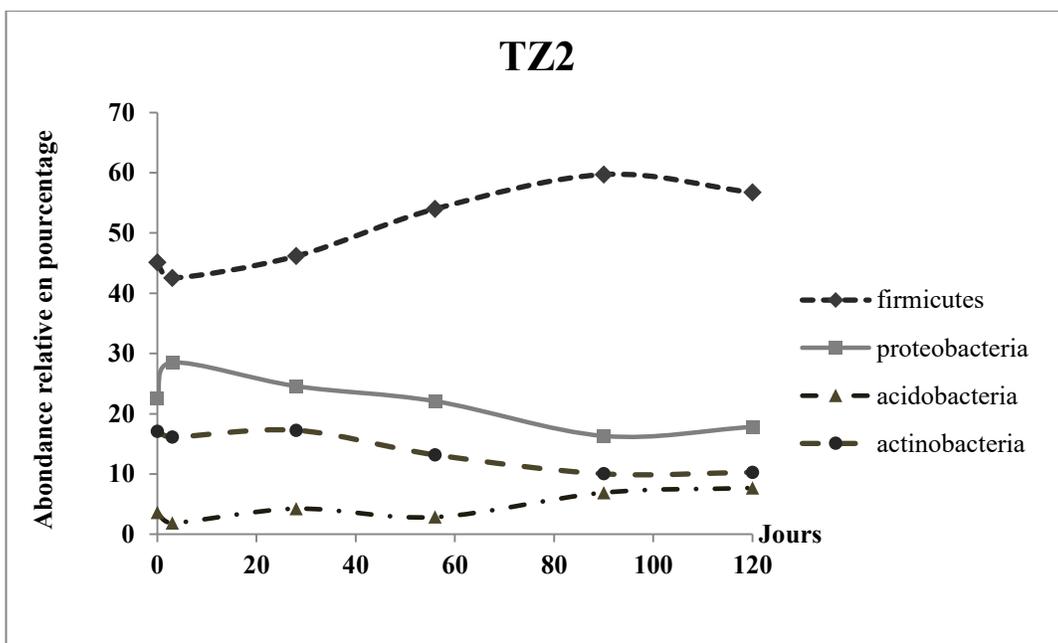
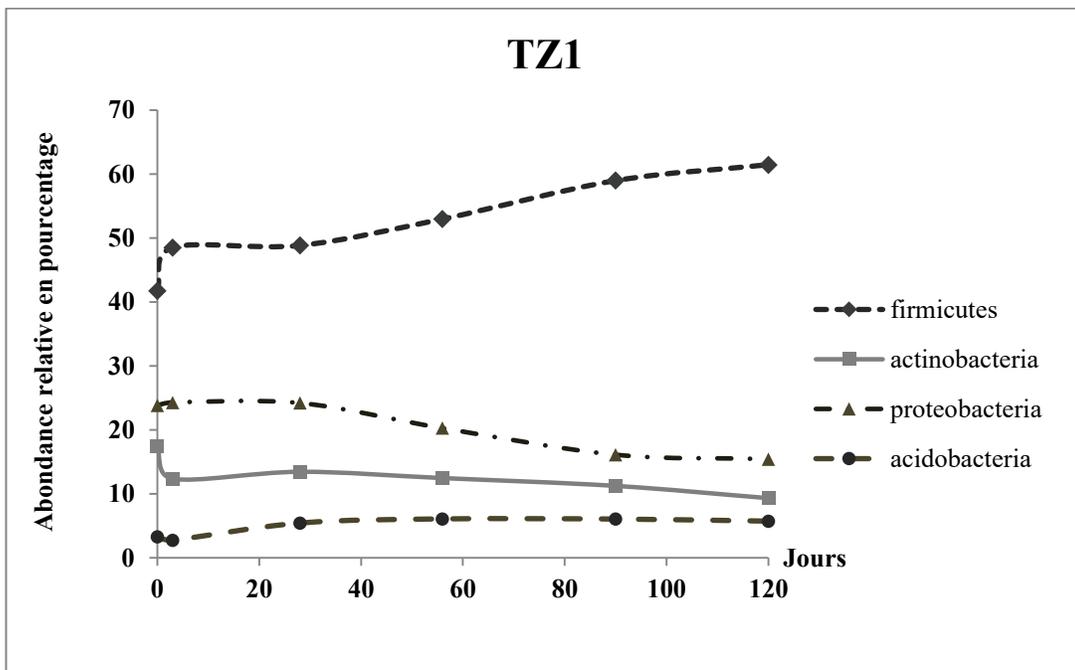
- mettre 440 ml d'eau déminéralisée (il est préférable que l'eau utilisée soit aussi réfrigérée),
- ajouter 750 ml d'acide sulfurique (densité =1,634),
- l'ajout de l'acide doit se faire de façon lente et progressive (afin d'éviter le choc thermique),
 - le mélange doit être utilisé lorsqu'il est revenu à température ambiante.

ANNEXE 3: Abondance relative des phyla au cours du temps









ANNEXE 4 : Amorces et codes-barres utilisés pour le pyroséquençage

Echantillons	BarcodeSequence	LinkerPrimerSequence	BarcodeName	SampleType	Description
FOI	ACTCGTCT	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit100	Rhizo	FOI1
IND	ACTCCTGT	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit97	Rhizo	INDE
KAM	ACTCGAGT	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit99	Rhizo	KAMOGHONE
LOMP	ACTCGTGA	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit101	Rhizo	LOMPOUL
MOZ	ACTCGACA	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit98	Rhizo	MOZAMBIQUE
TANZ	ACTCCTCA	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit96	Rhizo	TANZANIE
LB10	AATTCGCG	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit17	Incub0	Ban1 à 0 jour
LB1120	ACTCACTC	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit91	Incub120	Ban1 à 120 jours
LB128	ACACTGTG	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit37	Incub28	Ban1 à 28 jours
LB13	ACACCTCT	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit28	Incub3	Ban1 à 3 jours
LB156	ACCTCAAG	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit46	Incub56	Ban1 à 56 jours
LB190	ACGTGAAG	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit82	Incub90	Ban1 à 90 jours
LB20	AATTGCCG	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit19	Incub0	Ban2 à 0 jour
LB2120	ACTCAGAC	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit92	Incub120	Ban2 à 120 jours
LB228	ACAGACAG	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit38	Incub28	Ban2 28 jours
LB23	ACACCTGA	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit29	Incub3	Ban2 à 3 jours
LB256	ACCTCATC	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit47	Incub56	Ban2 à 56 jours
LB290	ACGTGATC	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit83	Incub90	Ban2 à 90 jours
MB10	AATAGGCG	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit15	Incub0	MB1 à 0 jour
MB1120	ACGTTGGT	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit89	Incub120	MB1 à 120 jours
MB128	ACACTCTC	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit35	Incub28	MB1 à 28 jours
MB13	ACACCACA	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit26	Incub3	MB1 à 3 jours
MB156	ACCTAGCA	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit44	Incub56	MB1 à 56 jours
MB190	ACGTCTAG	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit80	Incub90	MB1 à 90 jours
MB20	AATCCGG	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit16	Incub0	MB2 à 0 jour
MB2120	ACTCACAG	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit90	Incub120	MB2 à 120 jours
MB228	ACACTGAC	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit36	Incub28	MB2 à 28 jours

Echantillons	BarcodeSequence	LinkerPrimerSequence	BarcodeName	SampleType	Description
MB256	ACCTAGGT	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit45	Incub56	MB2 à 56 jours
MB290	ACGTCTTC	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit81	Incub90	MB2 à 90jours
Moz10	AATTGGCC	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit21	Incub0	Moz1 à 0 jours
Moz1120	ACTCAGTG	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit93	Incub120	Moz1 à 120 jours
Moz128	ACAGACTC	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit39	Incub28	Moz1 à 28 jours
Moz13	ACACGACT	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit30	Incub3	Moz1 à 3 jours
Moz156	ACCTCTAC	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit48	Incub56	Moz1 à 56 jours
Moz190	ACGTGTAC	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit84	Incub90	Moz1 à 90 jours
Moz20	ACACACAC	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit22	Incub0	Moz2 à 0 jours
Moz2120	ACTCCACT	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit94	Incub120	Moz2 à 120 jours
Moz228	ACAGAGAC	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit40	Incub28	Moz2 à 28 jours
Moz23	ACACGAGA	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit31	Incub3	Moz2 à 3 jours
Moz256	ACCTCTTG	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit49	Incub56	Moz2 à 56 jours
Moz290	ACGTGTTG	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit85	Incub90	Moz2 à 90 jours
T0	ACACACTG	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit23	Incub0	Témoin à 0 jour
T120	ACTCCAGA	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit95	Incub120	Témoin à 120 jours
T28	ACAGAGTG	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit41	Incub28	Témoin à 28 jours
T3	ACACGTCA	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit32	Incub3	Témoin à 3 jours
T56	ACGTAGGA	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit77	Incub56	Témoin à 56 jours
T90	ACGTTCCCT	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit86	Incub90	Témoin à 90 jours
TZ10	AATACGCC	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit13	Incub0	TZ1 à 0 jour
TZ1120	ACGTTCGA	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit87	Incub120	TZ1 à 120 jours
TZ128	ACACGTGT	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit33	Incub28	TZ1 à 28 jours
TZ13	ACACAGAG	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit24	Incub3	TZ1 à 3 jours
TZ156	ACCTACCT	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit42	Incub56	TZ1 à 56 jours
TZ190	ACGTCAAC	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit78	Incub90	TZ1 à 90 jours
TZ20	AATAGCGG	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit14	Incub0	TZ2 à 0 jour
TZ2120	ACGTTGCA	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit88	Incub120	TZ2 à 120 jours
TZ228	CACTCAG	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit34	Incub28	TZ2 à 28 jours

Echantillons	BarcodeSequence	LinkerPrimerSequence	BarcodeName	SampleType	Description
TZ256	ACCTACGA	AGRGTTCGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit43	Incub56	TZ2 à 56 jours
TZ290	ACGTCATG	AGRGTTCGATCMTGGCTCAG	27Fmodtit79	Incub90	TZ2 à 90 jours

Annexe 5 : Valorisation des travaux de thèse

- Article accepté pour publication dans la revue **Journal of Soil Science and Environmental Management (JSSEM)** :

Titre : *The effect of *Jatropha curcas* L. leaf litter decomposition on soil carbon and nitrogen status and bacterial community structure (Senegal)*

Auteurs : *DIEYE Tidiane, ASSIGBETSE Komi, DIEDHIOU Ibrahima, SEMBENE Mbacké, DIENG Amadou Lamine, GUEYE Mariama et MASSE Dominique*

Accepté le 26 Novembre 2015, publié en Mars 2016

- Communications

Communication 1: DIEYE Tidiane, ASSIGBETSE Komi, DIEDHIOU Ibrahima, SEMBENE Mbacké et MASSE Dominique, 2014. Structure génétique des communautés bactériennes et activité microbienne des sols sous l'influence de différents types de litière de *Jatropha curcas* L. Poster présenté lors des doctoriales de l'ED-SEV (5^{ème} édition).

Communication 2: DIEYE Tidiane, MASSE Dominique, DIEDHIOU Ibrahima, SEMBENE Mbacké et ASSIGBETSE Komi, 2015. Structure, diversité génétique et dynamique des communautés bactériennes et activité microbienne des sols sous l'influence de la culture de *Jatropha curcas* L. Formation SENE BIO 2015.

Article :

academicJournals

Vol. 7(3), pp. 32-44, March, 2016

DOI: 10.5897/JSSSEM15.0528

Articles Number: 1F7CF2557800

ISSN 2141-2391

Copyright ©2016

Author(s) retain the copyright of this article

<http://www.academicjournals.org/JSSSEM>Journal of Soil Science and Environmental
Management

Full Length Research Paper

The effect of *Jatropha curcas* L. leaf litter decomposition on soil carbon and nitrogen status and bacterial community structure (Senegal)

Tidiane Dieye^{1,2}, Komi Assigbetse^{1*}, Ibrahima Diedhiou³, Mbacké Sembene², Amadou Lamine Dieng¹, Mariama Gueye¹ and Dominique Masse¹

¹Centre de Recherche IRD-ISRA de Bel-Air, UMR 210 Eco&Sols LMI IESOL, Laboratoire d'Ecologie Microbienne des Sols et Agrosystèmes Tropicaux, B.P. 1386 CP 18524 Dakar, Sénégal.

²Département de Biologie Animale, Université Cheikh Anta Diop Dakar, Senegal.

³Ecole Nationale Supérieure d'Agriculture, Thiès, Senegal.

Received 8 October, 2015; Accepted 26 November, 2015

The cultivation of *Jatropha curcas* L. as a biodiesel feedstock has been encouraged in Senegal to reduce dependence on fossil fuels and mitigate the effects of climate change. *J. curcas* is a poisonous plant which sheds its leaves during the dry season. Although the leaves are toxic for animals, they can help to recycle soil organic matter. This study set out to determine the effect of the decomposition dynamics of green and senescent *J. curcas* leaves on the soil C and N contents and on the structure of the bacterial community. Leaf litter decomposition was studied for 4 months by laboratory incubation and samples were taken at the start of incubation and at 3, 28, 56, 90 and 120 days. Green leaves had a higher N content, higher concentrations of water soluble compounds and hemicelluloses, but a lower C:N ratio and lignin content than senescent leaves regardless of the cultivar. The cultivar, the type of litter and the interaction between them, all had a significant effect on the soil N content ($p < 0.0001$, $R^2 = 0.995$) and C:N ratio ($p < 0.0001$, $R^2 = 0.998$). However, the cultivar was the only factor that affected the leaf C content ($p < 0.05$, $R^2 = 0.624$). The initial N content explained the $N-NH_4^+$ mineralization at the start of decomposition and the initial lignin content explained the $N-NH_4^+$ mineralization at later stages of decomposition. The recalcitrant C content in the green leaves was estimated as being between 70.01 and 73.33% of the total C content and between 72 and 77.33% in senescent leaves. This suggests that *Jatropha* litter may contribute significantly to soil C sequestration. The results indicate that the soil had higher bacterial diversity in the later stages of litter decomposition, for both types of litter and all cultivars.

Key words: *Jatropha curcas* L., leaf litter, nitrogen mineralization, carbon mineralization, bacterial community, polymerase chain reaction denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE), Senegal.

INTRODUCTION

Soils in the arid and semi-arid Sudano Sahelian region of West Africa have an intrinsic low level of fertility (Bationo

and Buerkert, 2001) and increasing pressure from livestock grazing is causing a significant loss of organic

Communication 2 :

Structure, diversité génétique et dynamique des communautés bactériennes et activité microbienne des sols sous l'influence de la culture de *Jatropha curcas* L.




DIÈYE Tidiane^{1,2}, MASSE Dominique², DIEDHIU Ibrahim³, SEMBENE Mbacké¹ et ASSIGBETSE Kom²

1. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Faculté des Sciences et Techniques, Département de Biologie Animale.
 2. IRD UMR 210 Eco&Sols – LEMSAT – Campus ISRA-IRD Bel Air - BP 1388, Dakar CP 18524, Sénégal
 3. École Nationale Supérieure d'Agriculture (ENSA)





Introduction

Dans plusieurs agro-écosystèmes (à l'exception de la zone forestière), les sols sont naturellement pauvres en carbone organique. *Jatropha curcas*, une plante qui apporte une quantité importante de matière organique au sol à travers sa litière foliaire, peut être utilisée à la fois comme biocarburant et comme outil permettant la séquestration du carbone et un moyen pour réhabiliter les sols. Cependant les effets à long terme de cette culture sur les autres caractéristiques de l'environnement et surtout sur les composantes biologiques du sol ne sont pas clairement établis.

Objectifs

- Évaluer l'effet de différents types de litières, de provenances différentes de *Jatropha curcas* L. sur l'activité biologique et la fertilité du sol.
- Déterminer ainsi l'impact de ces différents types de litières d'origines différentes sur la diversité des communautés bactériennes du sol au cours du temps.
- Étudier l'activité biologique et la diversité des communautés bactériennes associées à la rhizosphère de différents phénotypes de *Jatropha curcas* L.

Matériels & Méthodes

Expérimentation

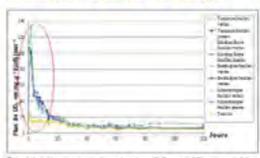
- Échantillonnage
 - Prélèvement de litières
 - 2 types: litière fraîche (1), litières sénescentes (2).
 - 4 provenances: Madiop Boye (MB) et Banfadjiré (Ban) du Sénégal, Mozambique (Moz) et Tanzanie (TZ).
 - Échantillonnage de sol
 - Incubation de litière-sol avec un sol témoin (pas d'apport de litières) à 28°C pendant 120 jours pour 6 sorties d'incubation: 0, 3, 28, 56, 90, 120 jours.
- Echantillonnage de sols rhizosphériques de *Jatropha*
 - 6 provenances de *Jatropha*:
 - 3 provenances exotiques: Inde, Mozambique et Tanzanie
 - 3 provenances locaux: Foil, Kamoghone et Lompoul

Analyses

- Survi régulier du dégagement de CO₂ au Micro-Chromatographe à Phase Gazeuse (μCPG) des échantillons incubés
- Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel XLStat-Pro (2011.2.04 AddinSoft).
- Extraction d'ADN total contenu dans le sol avec le Kit FastDNA SPIN Kit for Soil.
- Pyrosequencing: MR DNA (), Phylotax R package (version 1.10.0), epplo2 (Version 1.0.1)

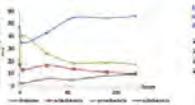
Résultats

Activité microbienne du sol sous l'influence des litières de *Jatropha*



Quelle que soient leurs types et leurs provenances, les litières de *Jatropha curcas* ont entraîné une augmentation de l'activité microbienne au début de leur incorporation au sol par rapport au témoin.

Identification, structure et dynamique des communautés bactériennes impliquées dans les décompositions des litières de *Jatropha*



La grande majorité des litières (97%) est constituée de la structure de phylum des Firmicutes.

La diversité des communautés bactériennes est plus élevée dans les litières de provenance exotique.

Richesse spécifique et diversité de Shannon des sols amendés avec la litière de *Jatropha*



La litière de *Jatropha* augmente la diversité bactérienne des sols.

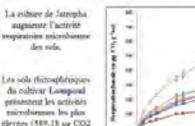
Diversité de Shannon plus élevée avec la litière sénescente.

Diversité bactérienne des sols Rhizosphériques de *Jatropha*



Les sols rhizosphériques des cultivars exotiques de *Jatropha* proviennent d'Inde, de Mozambique et de Tanzanie ont des diversités de Shannon supérieures à ceux des cultivars locaux.

Respiration basale des sols rhizosphériques



La culture de *Jatropha* augmente l'activité respiratoire microbienne des sols.

Les sols rhizosphériques du cultivar Lompoul présentent les activités microbiennes les plus élevées (180,13 μg CO₂ g sol⁻¹ h⁻¹).

Discussion

Impact de *Jatropha* sur l'activité microbienne du sol

Notre étude montre une élévation du flux de CO₂ durant les premières semaines (2^{ème} et 3^{ème} semaines) qui suivent l'incubation de sol amendés avec des résidus organiques; cette tendance a été observée dans les études de Sall *et al.* (2003) et de Cleveland *et al.* (2013). L'augmentation du flux de CO₂ suggère une augmentation de l'activité microbienne correspondant à l'utilisation des composés facilement dégradables des litières (Sperschtz *et al.*, 2013).

Dans notre étude, tous les cultivars ont entraîné une augmentation de l'activité respiratoire microbienne des sols rhizosphériques et les valeurs les plus élevées ont été obtenues avec le cultivar local nommée Lompoul. Les études de Brzostek *et al.* (2013) montrent que l'activité respiratoire microbienne est significativement plus élevée dans les sols cultivés.

Diversité bactérienne des sols cultivés avec *Jatropha*

La différence de diversité de Shannon entre les sols amendés avec les résidus sénescents et les sols amendés avec les résidus frais de *Jatropha* pourrait être expliquée par la différence des teneurs en lignine entre deux types de résidus. Les études DeAngelis *et al.*, (2011) montrent que l'augmentation des teneurs en lignine entraîne une augmentation de la diversité.

La qualité biochimique des litières de *Jatropha* (type de litières) impact la composition du phylum des Firmicutes; cependant, le phylum des Proteobacteria est structuré en fonction du temps.

L'augmentation des diversités de Shannon des sols cultivés avec les cultivars exotiques comparés aux cultivars locaux pourrait s'expliquer par l'adaptation des plantes exotiques dans les nouvelles conditions pédoclimatiques par l'exsudation de substances favorables à la diversification des communautés bactériennes du sol. En effet les plantes peuvent influencer directement les communautés microbiennes bénéfiques à la croissance des plantes elles-mêmes (Paterson, 2003).

Conclusion

- Les litières foliaires de *Jatropha* augmentent l'activité biologique et la diversité bactérienne du sol.
- La diversité phénotypique des plants de *Jatropha* influe sur la diversité bactérienne

Références

1. Bouché, J. P., Sarr, A., Diop, T., and Diop, A. F. (2015). Diversité génétique et dynamique des communautés bactériennes et activité microbienne des sols amendés avec des résidus organiques et stabilité de l'humus. *Revue de Biologie de l'IRD*, 10, 1-10.

2. Brzostek, A., Bani, L., Eide, A., Steiner, D., Cihel, M., Steiner, N., Steiner, E., et al. (2013). Long-term effects of organic amendments on soil microbial communities and ecosystem functions in a temperate forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 62, 101-112.

3. DeAngelis, M. J., Adams, M., Steiner, C., Taylor, C., Steiner, J., Steiner, N., et al. (2011). The effects of organic amendments on soil microbial communities and ecosystem functions in a temperate forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 43, 101-112.

4. Paterson, C. (2003). The effects of organic amendments on soil microbial communities and ecosystem functions in a temperate forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 101-112.

5. Sall, P., Diop, T., Diop, A. F., Diop, A., Diop, T., Diop, A., et al. (2003). The effects of organic amendments on soil microbial communities and ecosystem functions in a temperate forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 101-112.

6. Sperschtz, A., Diop, T., Diop, A., Diop, T., Diop, A., Diop, T., et al. (2013). The effects of organic amendments on soil microbial communities and ecosystem functions in a temperate forest. *Soil Biology and Biochemistry*, 62, 101-112.

Remerciements

Le projet a été financé par le Programme National de Recherche Scientifique (PNRS) de l'Etat du Sénégal, le Programme National de Recherche Scientifique (PNRS) de l'Etat du Sénégal, le Programme National de Recherche Scientifique (PNRS) de l'Etat du Sénégal, le Programme National de Recherche Scientifique (PNRS) de l'Etat du Sénégal, le Programme National de Recherche Scientifique (PNRS) de l'Etat du Sénégal.

Ce poster a été préparé pour la Conférence SEVERO 2014

Résumé :

Jatropha curcas L. (JCL) est une plante pouvant être utilisée à la fois comme productrice de biocarburant, un outil permettant la séquestration du carbone et un moyen pour réhabiliter les sols. *Jatropha curcas* est la seule plante productrice de biocarburant qui permet une réduction rapide des gaz à effet de serre. Cependant, les effets à long terme de cette culture sur les autres caractéristiques environnementales et surtout sur les composantes biologiques du sol ne sont pas clairement établis. C'est ainsi que nous nous sommes intéressés à l'impact de la culture de *Jatropha* sur l'activité et la diversité microbienne des sols ainsi que sur la disponibilité des nutriments. De plus, notre étude cherche à modéliser la dynamique du carbone dans des sols cultivés avec *Jatropha* pour mieux comprendre l'impact de *Jatropha* dans le stockage du carbone. Pour atteindre nos objectifs, des expérimentations ont été menées; d'abord dans des conditions de laboratoire, nous avons examiné l'impact de feuilles (fraîches et sénescents) de différentes provenances de *Jatropha* sur les cycles du carbone et de l'azote ainsi que sur la dynamique des communautés bactériennes des sols. Dans cette expérimentation, les feuilles sénescents jaunes et fraîches de quatre provenances de *Jatropha* dont deux originaires du Sénégal : Banfadjiré (Ban) et Madiop Boye (MB) ; une provenant de Mozambique (MOZ) et une de Tanzanie (TZ) ont été apportées à du sol et incubées pendant 120 jours (avec six sorties d'incubation : 0, 3, 28, 56, 90 et 120 jours). Cette expérimentation nous a montré que l'apport de feuilles de *Jatropha* au sol entraîne une augmentation de la diversité alpha et que la composition chimique des feuilles de *Jatropha* varie en fonction de la diversité phénotypique des provenances; ce qui impacte la diversité et la richesse spécifique de la communauté bactérienne totale. Les pourcentages de carbone récalcitrant des feuilles de *Jatropha* varient entre 70,01% et 73,33% du carbone total pour les feuilles fraîches et entre 72% et 77,33% pour les feuilles sénescents. Ainsi, *Jatropha* joue un rôle important dans le stockage du carbone dans les sols. Afin d'étudier les paramètres biologiques et chimiques des sols en réponse directe avec la culture de *Jatropha*, d'autres expérimentations ont été réalisées sur des sols rhizosphériques de six provenances de *Jatropha* dont trois locales (Kamonghone, Fois 1 et Lompoul) et trois exotiques (Inde, Tanzanie et Mozambique), mais aussi des systèmes de culture de *Jatropha* en association avec la culture du mil. Ces plantations de *Jatropha* ont été installées dans le village de Ngoui (13°59'44.07"N ; 15°35'52.15"O) de la région de Kaffrine (Sénégal). Cette étude a montré que la culture de *Jatropha* améliore la qualité biologique et chimique des sols. La communauté bactérienne rhizosphérique est façonnée par la diversité phénotypique de *Jatropha*. Les sols cultivés avec les provenances exotiques de *Jatropha* ont eu des diversités de Shannon relativement supérieures aux sols cultivés avec les provenances locales. Cependant, la culture de la provenance Lompoul qui est une provenance locale donc mieux adaptée aux conditions locales, entraîne une meilleure amélioration des teneurs en azote total et en nitrates et de la diversité de Shannon des communautés bactériennes nitrifiantes et dénitrifiantes. Les activités enzymatiques de la Béta-glu et de la phosphatase acide ainsi que la biomasse microbienne sont également plus élevées avec la culture de la provenance Lompoul. *Jatropha curcas* L., une plante pérenne productrice de biocarburant, ne présente pas d'influence négative sur les cultures annuelles associées telles que le mil.

Mots-clés : *Jatropha curcas* L. ; diversité alpha ; activité microbienne ; rhizosphère ; litière ; DGGE ; pyroséquençage ; métagénomique ; stockage du carbone.

Title: Genetic diversity, structure and activity of microbial communities in soil cultivated with *Jatropha curcas* L., evaluation of its soil carbon storage potential

Abstract:

The non edible biofuels production plant, *Jatropha curcas* L. (JCL) or pourghere, is an excellent tool for carbon sequestering and marginal land rehabilitation. It is the only biofuel producer that allows an immediate greenhouse gas reduction. However, low informations are available on the effect of this plant on soil biological component. Therefore our study is focusing on microbial activity, biodiversity and nutrients availability in soils cultivated with *J. curcas*. We are also studying the potential of this plant to sequester carbon in soil by modeling soil JCL litter carbon dynamic. Firstly, laboratory experimental was conducted to determine the impact of fresh and senescent leaves coming from on different *J. curcas* origin on carbon and nitrogen cycles and on soil bacteria community dynamic. Two of origin used in this study are local plants coming from to Senegal (Ban: Banfadjiré and MB: Madiop Boye) and the two others origin are exotic plants, one coming from to Mozambique (MOZ) and one from Tanzania (TZ). All leaf litter types of all origin were mulching on soil and incubated fours month with six sampling dates (0, 3, 28, 56, 90 and 120 days). This experimentation shows that *Jatropha* leaf litter increase soil bacterial alpha diversity which varied among phenotypic *Jatropha* diversity of origin. JCL green leaves recalcitrant carbon content was estimated between 70.01% and 73.33% of total C content and senescent leaf litter between 72% and 77.33%. This finding suggests that *Jatropha* litter can contribute to a large part to soil carbon storage. The second experiment was conducted on field (Ngoui village of Kaffrine located at 13°59'44.07"N; 15°35'52.15"O in Senegal) for studying biological and chemical characteristic of soil rhizospheric of local (Kamonghone, Fois 1 and Lompoul) and exotic (Inde, Tanzanie and Mozambique) *J. curcas* plants but also of association of *Jatropha* with millet. Results of this study show that *Jatropha* cultivation increase biological and chemical soil quality. Like litter, *Jatropha* phenotypic diversity impact bacterial soil rhizospheric diversity which is relatively superior in soil cultivated with exotic than local plant. However soil parameter such as nitrogen, nitrates, microbial biomass, betaglucosidase and phosphatase activity but also nitrifying and denitrifying bacterial diversity are increased by Lompoul origin which is better adapted to local conditions. *Jatropha curcas*, perennial plant biocarburant producer may be associated with edible annual plants.

Keywords: *Jatropha curcas* L.; alpha diversity; microbial activity; rhizosphere; litter; DGGE; pyrosequencing; metagenomics; carbon storage.
