



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/>
Eprints ID : 14389

To cite this version : Chauvet, Eric and Fustec, Eliane and Gas, Gilbert Etude expérimentale de la dégradation des lignines de Peuplier dans un sol alluvial et dans l'eau d'un fleuve (Garonne). (1986) Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie, vol. 302 (n° 3). pp. 87-90. ISSN 0764-4469

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@listes-diff.inp-toulouse.fr

ÉCOLOGIE GÉNÉRALE. — *Étude expérimentale de la dégradation des lignines de Peuplier dans un sol alluvial et dans l'eau d'un fleuve (Garonne)*. Note de Eric Chauvet, Éliane Fustec et Gilbert Gas, présentée par Paul Ozenda.

Le taux de dégradation de lignocelluloses de peuplier marquées sur la lignine à partir de phénylalanine ^{14}C (U) est sensiblement le même, en conditions contrôlées, dans l'eau de la Garonne et dans un sol alluvial en bordure du fleuve. L'évolution du dégagement de $^{14}\text{CO}_2$ est cependant différente dans les deux types de milieux, de même que le taux de récupération de produits de dégradation hydrosolubles. La quantité de produits marqués incorporés à la fraction humique directement extractible du sol est relativement faible mais varie selon les fractions granulométriques considérées.

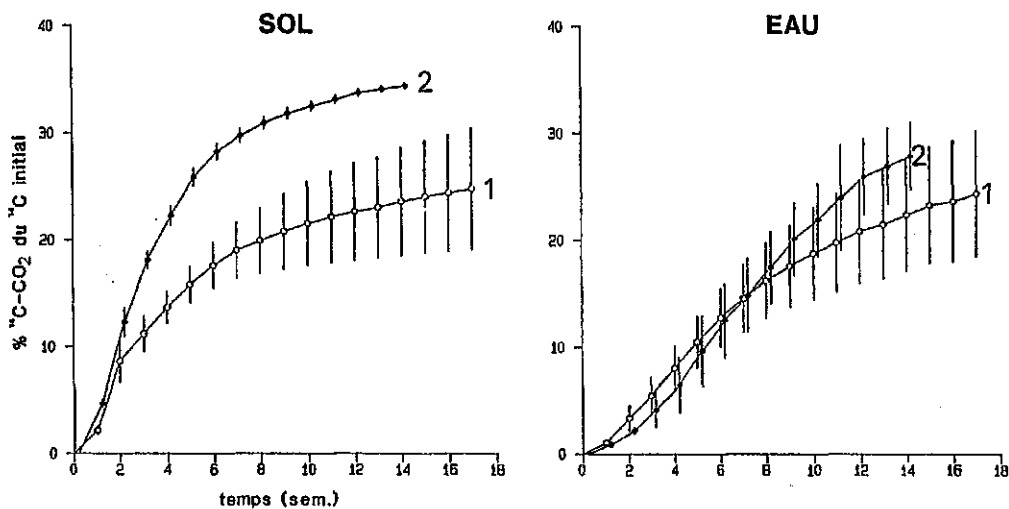
GENERAL ECOLOGY. — Experimental study of the degradation of poplar lignins in an alluvial soil and in the water of a river (Garonne).

The extent of degradation of poplar lignocelluloses labelled in lignin fraction with phenylalanine ^{14}C (U) is almost the same, in controlled conditions, in the water of the Garonne and in an alluvial soil along the river. However, some differences appear in the $^{14}\text{CO}_2$ evolution between the two types of environmental conditions, as in the level of hydrosoluble degraded products recovered. The amount of labelled compounds linked with the humic fraction extracted directly from the soil is relatively low but varies with the different size grain fractions.

INTRODUCTION. — Les ripisylves, peuplements forestiers qui s'installent naturellement en bordure des grandes rivières (saulaies à *Salix alba*, aulnaies à *Alnus glutinosa*, ormaies-frênaies à *Fraxinus excelsior* et *Ulmus minor*) et les peupleraies qui leur sont fréquemment substituées contribuent, par leurs retombées de litières à la formation d'humus spécifiques des sols alluviaux ainsi qu'à l'approvisionnement des systèmes aquatiques en matière organique. Dans cette zone d'interface, un même type de litière peut évoluer de façon continue sur le sol ou dans l'eau mais, en raison des transferts mécaniques d'une partie des débris végétaux lors des crues, la transformation des litières peut commencer sur le sol et se poursuivre en milieu aquatique ou, inversement, s'amorcer dans l'eau pour s'achever en milieu terrestre. Au cours de la décomposition du matériel végétal dans ces deux types de milieux, certaines fractions organiques sont très rapidement solubilisées ou métabolisées ([1], [2], [3]). En revanche, les constituants plus résistants à la biodégradation, notamment les lignines, persistent plus longtemps ou tendent à s'accumuler; leur devenir étroitement dépendant des conditions physico-chimiques et biologiques des milieux, est encore très mal connu.

L'utilisation des méthodes radioisotopiques a permis, au cours des dernières années, de réaliser des progrès importants dans la connaissance des processus de biodégradation des lignines essentiellement dans une perspective de valorisation industrielle des biomasses végétales ([4], [5]). Certains travaux, cependant, ont abordé l'étude de la dégradation des lignines dans divers milieux naturels: sols, eaux, sédiments lacustres ou marins, rumen. Les études ont été réalisées dans des conditions expérimentales variées, soit à partir de « lignines de synthèse » ([6], [7]), soit à partir de lignocelluloses naturelles marquées sur la fraction polyphénolique par incorporation d'un précurseur radioactif ([6], [8] à [11]). Plusieurs travaux ont pris en compte l'activité de l'ensemble des microorganismes, d'autres celle de souches isolées des différents milieux. Malgré des difficultés pour comparer les résultats de ces études, il apparaît que la dégradation des lignines est un processus, en général assez lent en conditions naturelles, mais dont l'intensité peut varier dans des proportions très importantes selon les milieux.

Le but de la présente étude préliminaire est de comparer, en conditions expérimentales, les vitesses de dégradation des lignines naturelles de peuplier marquées ^{14}C , dans un sol



Évolution du dégagement cumulé de ¹⁴CO₂ provenant de la dégradation de lignines ¹⁴C de Peuplier, en mai (1) et en janvier (2) dans un sol alluvial et dans l'eau du fleuve (la Garonne). Incubation à 28°C. Résultats exprimés en pourcentage de la radioactivité introduite, les traits verticaux représentant la déviation standard à la moyenne.

Cumulative evolution of ¹⁴CO₂ from degradation of poplar ¹⁴C lignins in May (1) and January (2) in an alluvial soil and in the water of a river (the Garonne). Incubation at 28°C. Results expressed in percentage of the initial radioactivity, vertical lines represent standard deviation of the mean.

alluvial et dans l'eau du fleuve adjacent, la Garonne, milieux dans lesquels se répartissent, chaque année, les apports de litière de cette espèce.

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — Le marquage a été réalisé sur une vingtaine de jeunes plants de peuplier « *Populus × euramericana* (Dode) I 214 », selon la technique de la tige sectionnée [12]: 5 µCi de phénylalanine ¹⁴C (U) sont incorporés par absorption dans chaque rameau; les tiges sont ensuite transférées dans un récipient contenant de l'eau distillée et maintenues sous éclairage dans une enceinte ventilée pendant 1 semaine. A la suite de cette étape de métabolisation du précurseur, les tiges sont écorcées, lyophilisées puis broyées et tamisées à 500 µm. Les lignocelluloses sont obtenues par épuisement séquentiel de cette poudre, d'abord par l'eau distillée (4 fois) puis par une solution de NaCl M contenant 2% de Triton X100 (4 fois), enfin par un mélange éthanol-benzène 1 : 2 V/V [13]. Le résidu, rincé à l'alcool absolu, est séché sous vide. L'activité spécifique de ces lignocelluloses marquées, mesurée après combustion d'aliquotes au four Packard Tricarb Sample Oxidizer, est de 8950 d.p.m./mg.

Les échantillons de sol sont prélevés sous une ripisylve de type ormaie-frénaie au niveau de l'horizon organo-minéral superficiel (0-2 cm) et tamisés à 2 mm. Le pH (eau) du sol est de 7,95, le taux de carbone total de 5,3% et le C/N égal à 12. A la date des prélèvements, mai 84 et janvier 85, les taux d'humidité sont respectivement de 31,5 et de 56,7%. Les prélèvements d'eau sont effectués simultanément dans la Garonne, à proximité de la berge. Le pH de l'eau est de 8,3, les teneurs en carbone organique et en azote nitrique sont respectivement de 2 et de 3.10⁻⁶. 10 ou 20 mg de poudre de lignocelluloses marquées sont incorporés dans des fioles de culture contenant 20 g de sol humide ou 50 ml d'eau. Les incubations sont conduites en triple exemplaire à 28°C pendant 17 semaines (mai 84) ou 14 semaines (janvier 85). Tous les jours en début d'expérience, puis tous les 3-4 jours, l'atmosphère des fioles est renouvelée sous courant d'air comprimé débarrassé de CO₂ et le CO₂ dégagé est piégé dans 5 ml d'éthanolamine à 20%. La radioactivité du ¹⁴CO₂ est mesurée au compteur Packard après addition de 10 ml de mélange scintillant Readysolv MP Beckman. A l'issue de l'expérience de janvier 85, la radioactivité des produits de dégradation des lignines dissous dans l'eau est mesurée après filtration sur membrane 0,45 µm; les composés hydrosolubles sont également extraits des échantillons de sol totaux par agitation dans l'eau pendant 2 h, centrifugation et filtration. Les composés humiques sont ensuite extraits par le pyrophosphate 0,1 M sur le sol total et sur les fractions granulométriques 2 mm-100 µm, 100-50 µm et inférieure à 50 µm obtenues par la méthode de tamisage sous l'eau [14]. Les acides fulviques (AF) et humiques (AH) sont séparés après acidification des solutions d'extraction à pH 1,5. La radioactivité est mesurée sur 5 ml des extraits aqueux et 1 ml des extraits humiques.

RÉSULTATS. — Les courbes représentées sur la figure font apparaître l'évolution hebdomadaire du dégagement de ¹⁴CO₂ à partir de sol et d'eau enrichis en lignocelluloses de peuplier marqués ¹⁴C sur la lignine au cours des expériences conduites à deux périodes

TABLEAU

Dégradation des lignines ^{14}C de lignocelluloses de Peuplier en pourcentage de la radioactivité introduite (incubation 14 semaines à 28°C , janvier-avril 1985).

Degradation of ^{14}C -lignins of poplar lignocelluloses expressed in percentage of the initial radioactivity (incubation for 14 weeks at 28°C , January-April 1985).

	Sol	Eau
CO_2 dégagé	$34,40 \pm 0,41$	$27,90 \pm 3,17$
Hydrosolubles	0,50	9,90
Comp. humiques (AF/AH) :		
Sol total	3,20 (2,7)	—
fraction 2 mm-100 μm	1,41 (1,5)	—
fraction 100-50 μm	0,50 (0,5)	—
fraction < 50 μm	1,62 (1,6)	—
TOTAL	38,1	37,8

différentes de l'année. Le tableau présente les taux de radioactivité mesurés dans les différentes fractions à l'issue de la deuxième expérience (janvier).

La comparaison des deux séries de courbes montre que la quantité totale de $^{14}\text{CO}_2$ dégagé, exprimée par rapport à la radioactivité initiale, est identique ou très voisine dans le sol et dans l'eau au cours des deux essais, soit respectivement $24,8 \pm 5,6\%$ et $24,4 \pm 5,9\%$ en mai après 17 semaines d'incubation et $34,4 \pm 0,4\%$ et $27,9 \pm 3,2\%$ en janvier après 14 semaines. Une certaine différence dans l'intensité de la dégradation de la lignine apparaît, par contre, en fonction de la date de prélèvement. Ainsi, au bout de 14 semaines le dégagement de $^{14}\text{CO}_2$ est dans le sol de $23,6 \pm 5,0\%$ en mai et de $34,4 \pm 0,4\%$ en janvier de même que dans l'eau il est de $22,4 \pm 5,2\%$ en mai et de $27,9 \pm 3,2\%$ en janvier. Les cinétiques d'évolution du $^{14}\text{CO}_2$ diffèrent sensiblement d'un milieu à l'autre : si, dans tous les cas, le dégagement de $^{14}\text{CO}_2$ se manifeste dès le premier jour, il reste relativement faible pendant une période plus courte pour le sol (1 semaine au plus) que pour l'eau (1 à 2 semaines au moins). La période suivante de dégagement maximal est plus courte mais plus marquée dans le cas du sol (1 à 2 semaines) que dans celui de l'eau (4 semaines environ). Une diminution régulière, nettement plus sensible pour le sol, s'observe ensuite jusqu'en fin d'expérience.

Les composés intermédiaires hydrosolubles résultant de la dégradation de la lignine représentent à l'issue de la seconde expérience près de 10% de la radioactivité introduite dans l'eau mais seulement 0,5% dans le sol. Par ailleurs, on récupère 3,2% de l'activité initiale dans la fraction humique extraite du sol total, les acides fulviques marqués étant nettement plus abondants que les acides humiques. Cette extraction réalisée sur trois fractions granulométriques met en évidence une activité plus élevée des composés humiques dans la fraction la plus grossière, d'une part, et dans la fraction la plus fine, d'autre part. Il convient de souligner qu'au total la quantité de radioactivité récupérée (CO_2 + extraits) est, à l'issue de cet essai, identique dans les deux milieux (38% environ).

DISCUSSION. — Avec 38% environ de dégradation des lignines en 14 semaines, le sol alluvial et l'eau de la Garonne se situent parmi les milieux naturels les plus actifs sur le plan de la ligninolyse. En milieu terrestre, en effet, si des taux de dégradation de 28 à 52% en 28 semaines sont observés dans un sol de jardin [16] ou de 40% en 4 semaines dans un sol prélevé sous un tas de sciure de bois [8], dans d'autres cas ce taux ne dépasse pas 5% en 1 mois [8]. De même, en milieu aquatique, la microflore d'une rivière de Virginie se révèle très active puisque 27 à 30% des lignines d'érable y sont décomposées en 1 mois [8] mais les taux de dégradation des lignines de macrophytes ne dépassent pas

6 à 16% dans des vases salées littorales [15], 8,5 à 13% dans un sédiment lacustre [9]. Il faut signaler également qu'en milieu de culture normal, ensemencé avec des souches de champignons isolées de bois en décomposition dans une rivière, 2 à 3% seulement des lignines sont dégradées en 3 à 4 semaines, ce taux n'atteignant 8 à 12% qu'après un apport d'azote dans le milieu [10]. Par ailleurs, l'activité de diverses espèces de champignons de pourritures blanches conduit en 4 semaines à la dégradation de 1,5 à 17% des lignines de peuplier sous atmosphère normale [11].

Alors que la quantité de composés radioactifs dissous dans l'eau du fleuve est importante (10%), le faible taux observé dans la fraction hydrosoluble du sol (0,5%) montre que les produits de dégradation de la lignine peuvent être liés rapidement, de manière plus ou moins stable, à la fraction organominérale du sol. La fraction humique contient effectivement des composés marqués en particulier au niveau des acides fulviques. Le fractionnement granulométrique montre que ces composés sont surtout extraits de la fraction la plus grossière et qu'ils peuvent alors provenir en partie de la lignine ¹⁴C résiduelle [16]. Nos expériences montrent que les produits résultant de la transformation microbienne des lignines se retrouvent essentiellement dans la fraction inférieure à 50 µm. Il convient de poursuivre le fractionnement physique et chimique de ce compartiment granulométrique afin de préciser le degré de stabilisation de ces composés. Enfin, la dégradation plus importante que nous observons en janvier dans l'eau comme dans le sol pourrait s'expliquer par une stimulation des microorganismes ligninolytiques au cours de la période qui suit la chute des feuilles. Cet effet demande à être précisé de même que la composition des populations microbiennes dans ces deux milieux.

Remise le 14 octobre 1985, acceptée le 25 novembre 1985.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] N. NYKVIST, *Oikos*, 13, 1962, p. 232-248.
- [2] K. SUBERKROPP, G. L. GODSHALK et M. J. KLUG, *Ecology*, 57, 1976, p. 720-727.
- [3] D. LOUSTEAU, *Thèse Doctorat 3^e cycle*, Université Nancy-I, 1984.
- [4] T. K. KIRK, T. HIGUCHI et H. M. CHANG, *Lignin biodegradation : microbiology, chemistry and potential applications*, I et II, C.R.C. Press, Boca Raton, Florida, U.S.A., 1980, 238 p. et 252 p.
- [5] R. L. CRAWFORD, *Lignin biodegradation and transformation*, John Wiley and Sons éd., New York, Chichester, Brisbane, Toronto, 141 p.
- [6] K. HAIDER et J. TROJANOWSKI, *Arch. Microbiol.*, 105, 1975, p. 33-41.
- [7] T. K. KIRK, W. J. CONNORS, R. D. BLEAM, W. F. HACKETT et J. G. ZEIKUS, *Proc. Nat. Acad. Sc., U.S.A.*, 72, 1975, p. 2515-2519.
- [8] D. L. CRAWFORD, S. FLOYD, A. L. POMETTO III et R. L. CRAWFORD, *Can. J. Microbiol.*, 23, 1977, p. 434-440.
- [9] T. W. FEDERLE et J. R. VESTAL, *Appl. Environ. Microbiol.*, 40, 1980, p. 32-39.
- [10] N. G. AUMEN, P. J. BOTTOMLEY, G. M. WARD et S. V. GREGORY, *Appl. Environ. Microbiol.*, 46, 1983, p. 1409-1416.
- [11] A. I. HATAKKA et A. K. UUSI-RAUVA, *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 17, 1983, p. 235-242.
- [12] A. BOUDET, *Comptes rendus*, 269, série D, 1969, p. 1966-1968.
- [13] G. ALIBERT et A. BOUDET, *Physiol. vég.*, 17, 1979, p. 67-74.
- [14] S. BRUCKERT, Analyse des complexes organo-minéraux des sols, in *Pédologie II*, Masson, Paris, 1979, p. 181-208.
- [15] R. BENNER, A. E. MACCUBIN et R. E. HODSON, *Appl. Environ. Microbiol.*, 47, 1984, p. 381-389.
- [16] J. P. MARTIN et K. HAIDER, in *Proc. int. symp. soil organic matter studies II*, I.A.E.A., Vienne éd., p. 23-32.

E. C. et E. F. : Centre d'Écologie des Ressources renouvelables, L.P. C.N.R.S. n° 8211,
29, rue Jeanne-Marvig, 31055 Toulouse Cedex;

G. G. : Centre de Physiologie végétale, U.A. C.N.R.S. n° 241,
Université Paul-Sabatier, 118, route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex.