

Sulphur mineralization during decomposition of organic matters in soil and its relationships with C and N dynamics

Hamid Niknahad Ghar Makher

▶ **To cite this version:**

Hamid Niknahad Ghar Makher. Sulphur mineralization during decomposition of organic matters in soil and its relationships with C and N dynamics. Sciences of the Universe [physics]. AgroParisTech, 2008. English. NNT : 2008AGPT0051 . pastel-00004764v2

HAL Id: pastel-00004764

https://pastel.hal.science/pastel-00004764v2

Submitted on 12 Feb 2009

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

N° /__/__/__/__/__/__/__/__/__/__/

THÈSE

pour obtenir le grade de

Docteur

de

L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement
(Agro Paris Tech)

Spécialité :

Agronomie et Environnement

présentée et soutenue publiquement
par

Hamid NIKNAHAD-GHARMAKHER

Le 4 Septembre 2008

Minéralisation du soufre associée à la décomposition des matières organiques dans les sols et relations avec les dynamiques du carbone et de l'azote

Devant le jury :

Jean ROGER-ESTRADE,	**Professeur, AgroParisTech, Paris**	**Président**
Roel MERCKX,	**Professeur,Université KU Leuven, Belgique**	**Rapporteur**
Sylvain PELLERIN,	**Directeur de Recherches, INRA, Bordeaux**	**Rapporteur**
Isabelle BERTRAND,	**Chargée de Recherches INRA, Reims**	**Examinateur**
Luc CHAMPOLIVIER,	**Ingénieur CETIOM, Toulouse**	**Examinateur**
Sylvie RECOUS,	**Directeur de Recherches INRA, Laon**	**Directrice de thèse**
Jean-Marie MACHET,	**Ingénieur de Recherches INRA, Laon**	**Encadrant**

Travail réalisé à l' INRA, UR1158 Unité d'Agronomie Laon-Reims-Mons, F-02007 LAON

L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech) est un Grand Etablissement dépendant du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, composé de l'INA PG, de l'ENGREF et de l'ENSIA (décret n° 2006-1592 du 13 décembre 2006)

Sommaire

Chapitre 1 : Introduction et état de l'art

1.Introduction……...4
2. Etat de l'art…….....6
Le soufre dans les plantes…….....6
Le soufre dans le sol……..……...14
Autres flux relatifs au cycle du soufre…….....22
La fertilisation soufrée des cultures…….....….26
Conclusion…….....31
3. Objectifs et démarche d'étude……..32

Chapitre 2 : Estimation of sulphur mineralization and relationships with nitrogen and carbon in soils

1. Introduction……...38
2. Materials and methods……...39
3. Results……...43
4. Discussion…….……....51

Chapitre 3 : The effect of the availability of sulphur on C mineralization and S dynamics, in soil amended or not with a C substrate

1. Introduction……...56
2. Materials and methods……....58
3. Results……64
4. Discussion……..79
5. Conclusion……84

Chapitre 4 Decomposition of crop residues of different chemical qualities and Sulphur contents: effect on soil C, N and S dynamics

1. Introduction……...88
2. Materials and methods……...89
3. Results……...94
4. Discussion…….…..…106
5. Conclusion……..……111

Chapitre 5 Discussion générale et perspectives

1. Principaux résultats relatifs à la dynamique du soufre…….…….……117
1.1. Minéralisation de l'humus du sol……..…….117
1.2. Relations C-N-S et limitation par S……..…..118
1.3. Rôle de la qualité des résidus végétaux et de leur teneur en S……..…….119
1.4. Perspective de modélisation……..120
2. Bilan du soufre dans les agrosystèmes :
Application à la gestion de la fertilisation soufrée…….……..126
2.1. Proposition d'un bilan prévisionnel de soufre minéral…….…….126
2.2. Estimation des termes du bilan…….…….127
2.3. Application à quelques situations culturales ……..……...129

Chapitre 1

Introduction et Etat de l'art

Introduction

Le soufre est un élément essentiel pour les plantes et les animaux. Dans la plante, il se classe quantitativement juste après les trois éléments majeurs que sont N, P et K. Bien que le soufre soit considéré comme un élément secondaire, les besoins des plantes en soufre sont égaux et parfois supérieurs à ceux du phosphore et du magnésium. Jusqu'à environ deux décennies, les carences en S étaient relativement rares sur les cultures arables en Europe; seules des situations ponctuelles de carence étaient observées dans les années 1960 et 1970, dans des régions à faible déposition atmosphérique. Au début des années 1980, les déficiences en S ont commencé à devenir fréquentes, par exemple en France celles-ci sont souvent observées sur les cultures de colza et de blé dans les années 1980, particulièrement après des automnes et des hivers à forte pluviométrie (Merrien, 1987 ; Taureau *et al.*, 1987 ; Thévenet et Taureau, 1987).

D'autres éléments ont été avancés pour expliquer l'apparition de ces déficiences. Tout d'abord, l'utilisation d'engrais minéraux purifiés à haut dosage en NPK mais ne contenant plus de soufre, est devenue prépondérante; par exemple, le superphosphate et le sulfate d'ammonium ont été largement remplacés par l'urée, le superphosphate triple, le nitrate d'ammonium et les phosphates d'ammoniac. Cette évolution a conduit à une forte diminution des fournitures de soufre. Par ailleurs, la mise en place dans beaucoup de pays européens d'une législation pour minimiser les émissions de dioxyde de soufre dans l'air, issues des industries et de la combustion des énergies fossiles, a entraîné une chute des quantités de S apportées par les retombées atmosphériques. Parallèlement, les niveaux de rendement des cultures continuent à progresser régulièrement, induisant des exportations plus élevées de S. La combinaison de ces différents facteurs fait que les disponibilités en soufre diminuent relativement de façon importante alors que les besoins des plantes s'accroissent, d'où un bilan de soufre négatif.

Après une étude bibliographique sur la réponse des cultures à la fertilisation soufrée, Zhao et al. (2002) concluent que S est maintenant un des principaux éléments nutritifs qui limite la production agricole dans de nombreuses régions européennes. Malgré cet aspect et comparativement à un élément comme l'azote, les connaissances du cycle du soufre dans le système sol-plante-atmosphère (Figure 1) et leur conceptualisation ne sont pas au premier plan des recherches, avec un manque de références précises sur S en France. La majeure partie du soufre du sol étant sous forme organique (90 à 95 %), il en résulte une forte dépendance entre les cycles du carbone, de l'azote et du soufre (Parton et al., 1988), liée au renouvellement des matières organiques dans les sols. Pour étudier le cycle de S dans les sols, il semble donc possible d'utiliser les mêmes concepts et méthodes que ceux mis au point pour C et N. La minéralisation du soufre organique en sulfate et le processus inverse d'incorporation du sulfate dans les composés organiques (organisation) jouent un rôle important dans le cycle du soufre dans les sols. Dans les situations où les entrées de soufre par déposition ou par la fertilisation minérale ou organique sont réduites, la minéralisation du soufre organique du sol peut devenir une source de soufre importante pour les cultures et les prairies, qu'il s'agit de quantifier et d'être en mesure de prévoir.

2. Etat de l'art

2.1. Le soufre dans les plantes

2.1.1. Rôle du soufre dans le métabolisme

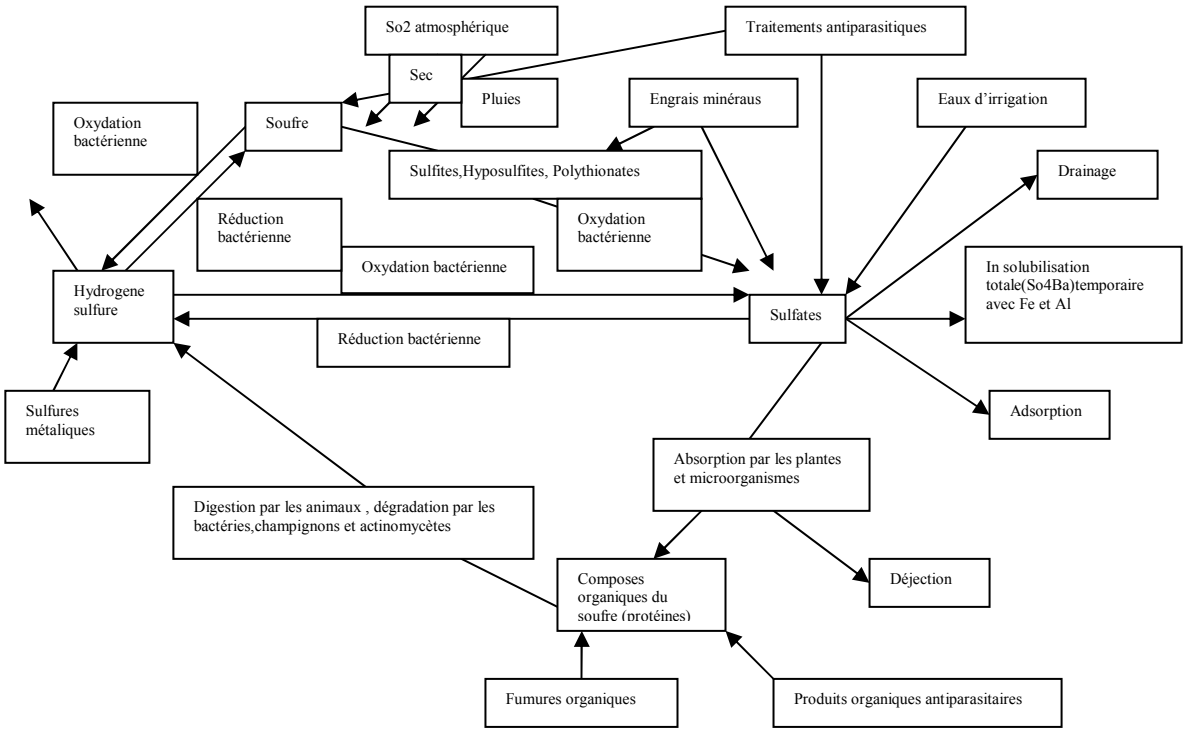
Le soufre est un élément essentiel pour la croissance et le développement des plantes. La quasi-totalité du soufre est absorbé par les racines des plantes à partir de la solution du sol sous forme d'ions sulfates SO_4^{--}, qui seront réduits comme les nitrates en vue de la synthèse de la matière végétale. Les fonctions du soufre sont étroitement liées à celles de l'azote et les deux éléments agissent en synergie. S constitue un élément-clé dans le métabolisme des plantes : c'est un constituant essentiel de certains acides aminés, comme la cystéine et la méthionine, qui entrent dans la fabrication des protéines. La cystéine et la méthionine peuvent représenter 90 % du S organique (Giovanelli, 1990). Par ailleurs, il entre dans la constitution de la chlorophylle, d'enzymes et de quelques vitamines comme la biotine, la thiamine et la gluthatione.

Dans le cas des Légumineuses, le soufre joue un rôle essentiel dans la formation des nodosités. Par ailleurs, on lui reconnaît une fonction importante dans les mécanismes de protection des plantes soit par sa présence dans des composés végétaux biocides comme par exemple les glucosinolates et les alliins, soit par l'émission à partir des feuilles de composés soufrés volatils qui ont des effets fongicides (Walker et Dawson, 2002).

2.1.2. Carence en soufre

D'une manière générale, la carence en soufre se traduit par un jaunissement des feuilles, un raccourcissement des entrenoeuds et un moindre développement du système radiculaire. Les légumineuses forment plus difficilement leurs nodosités, les céréales présentent un tallage plus lent et pour les espèces à fruits, la mise à fruit est retardée ou diminuée. Chez le colza, plante très exigeante, la carence en S se traduit surtout aux environs de la floraison, par un

Figure 1 : Le cycle du soufre dans la biosphère



jaunissement des feuilles plus jeunes du sommet ; les nervures restant vertes, seul jaunit le parenchyme internervaire. On peut observer aussi une dessiccation des siliques et un avortement des graines, conduisant à une altération du rendement. Généralement, les symptômes d'une carence en soufre sont très comparables à ceux d'une déficience en azote.

2.1.3. Soufre et qualité des récoltes

Pour les céréales et en particulier le blé tendre, le soufre intervient de manière prépondérante sur la qualité technologique des grains et leur valeur boulangère, en agissant sur la qualité des protéines. Le volume et la qualité du pain dépendent des quantités de cystéine et de méthionine dans les grains. Ces acides aminés soufrés interviennent dans la formation des ponts disulfures (S-S) de la fraction gluténique des protéines, qui confère des propriétés oxydatives à la farine et des propriétés d'élasticité et de force à la pâte. Zhao et al. (1999b et 1999c) ont montré récemment que le statut soufré d'un blé a un fort impact sur les propriétés rhéologiques de la pâte et la panification. L'augmentation de la teneur en S du grain est corrélée positivement à l'extensibilité de la pâte. Par ailleurs, des apports tardifs et conséquents d'azote sur le blé détériorent la qualité des protéines du gluten pour la panification, en raison d'un déséquilibre de N et S; des farines avec un rapport N/S supérieur à 17/1 ne sont pas utilisables pour la panification. Par contre, peu d'informations sont disponibles sur l'effet de la disponibilité en S sur la qualité de l'orge pour la brasserie (Zhao et al., 2002).

Pour le colza, le problème réside dans la présence de glucosinolates dans le grain. Les glucosinolates purs ne sont pas toxiques, mais les produits de leur dégradation (thiocyanates, isothiocyanates et nitriles) le sont pour les animaux. Bien que des progrès considérables aient été réalisés par la génétique et par la filière oléagineuse française pour ne disposer que de variétés de colza à faible teneur en glucosinolate, Zhao et al. (1994) ont établi une relation

étroite entre le statut soufré de la plante et la teneur en glucosinolates de la graine (une molécule de glucosinolate contient 2 ou 3 atomes de S et les acides aminés sont précurseurs de la biosynthèse des glucosinolates). Les variations de la disponibilité en S pour le colza sont un facteur clé de la teneur finale en glucosinolates des graines.

Pour les prairies, la déficience en S se traduit par une teneur totale en S de l'herbe inférieure à 0.2 % et un rapport N/S supérieur à 17/1, induisant une qualité nutritionnelle relativement pauvre. Pour l'alimentation animale, un rapport N/S inférieur à 15/1 est satisfaisant. Des apports de S augmentent la teneur en S, diminuent le rapport N/S et de plus accroissent la teneur de l'herbe en N total sous forme d'azote protéique (Murphy et al., 2002).

2.1.4. Besoins en soufre des plantes

Les besoins en S varient fortement entre les différentes espèces. Pour les cultures, en se basant sur leurs besoins globaux, on peut considérer le classement suivant, s'appuyant sur des critères d'ordre physiologique (Studer, 1984) :

* les cultures manifestant des besoins réduits en soufre (entre 10 et 20 kg de S/ha) sont celles qui fabriquent relativement peu de protéines, notamment très peu de protéines soufrées ; parmi elles, on peut citer par exemple toutes les graminées, en particulier les céréales (blé, orge, avoine, maïs) et la betterave à sucre. Pour ces cultures, les besoins en S sont d'environ un dixième de ceux en N.

* les cultures élaborant beaucoup de protéines à l'hectare, qui ont des besoins en soufre plus élevés (entre 20 et 50 kg de S/ha) ; c'est le cas des légumineuses (luzerne, trèfle, pois, vesce, féverole, soja, etc.)

Tableau 1: Teneurs en soufre et quantités absorbées pour différentes cultures

Espèces	Organes	Teneur en S	Rendement	Quantité absorbée
		% MS	t / ha	kg S / ha
Blé	Grain	0.20 (0.13-0.23)	9.0	18.0
	Paille	0.12 (0.08-0.18)	9.0	10.8
Orge	Grain	0.18 (0.13-0.23)	8.0	14.8
	Paille	0.10 (0.08-0.15)	8.0	8.0
Seigle	Grain	0.15 (0.10-0.18)	7.0	10.5
	Paille	0.10 (0.08-0.15)	7.0	7.0
Avoine	Grain	0.18 (0.13-0.20)	6.5	11.7
	Paille	0.12 (0.10-0.18)	6.5	7.8
Mais Grain	Grain	0.16 (0.12-0.18)	9.0	14.4
	Paille	0.12 (0.10-0.15)	8.2	9.8
Mais ensilage		0.14 (0.12-0.16)	16.0	22.4
Colza	Grain	0.40 (0.25-0.55)	3.5	14.0
	Paille	0.90 (0.70-1.10)	6.0	56.0
Tournesol	Grain	0.40 (0.25-0.55)	4.5	18.0
	Paille	0.60 (0.40-0.80)	5.0	30.0
Betteraves	Racines	0.15 (0.10-0.25)	70.0	21.0
à sucre	Feuilles	0.40 (0.30-0.60)	40.0	16.0
Pomme de	Tubercules	0.17 (0.10-0.30)	60.0	20.4
terre	Fanes	0.40 (0.30-0.60)	40.0	12.0
Plantes fourragères				
Luzerne		0.30 (0.20-0.45)	13.0	39.0
Trèfle		0.25 (0.15-0.30)	8.0	20.0
Fétuque		0.28 (0.20-0.30)	17.0	47.6
Dactyle		0.20 (0.15-0.22)	10.0	20.0
Cultures légumières				
Oignons		0.60 (0.40-0.80)		
Haricots verts		0.25 (0.20-0.32)		
Epinards		0.45 (0.40-0.55)		
Carotte		0.20 (0.15-0.25)		
Choux				75.0
Choux fleur				60.0
Choux de Bruxelles				80.0
Broccoli				60.0
Poireaux				35.0
Laitues				15.0

les teneurs entre (-) correspondent aux variations mini-maxi

* les cultures synthétisant en plus de leurs protéines des composés soufrés particuliers ; en fabriquant beaucoup de protéines et des composés soufrés spéciaux, leurs besoins en S sont particulièrement élevés et dépassent souvent 60 ou 80 kg de S/ha; en agriculture, cela concerne les crucifères (colza, moutarde), et en maraîchage les liliacées (oignons, poireaux) et les ombellifères (céleris). Le tableau 1 donne des valeurs de teneur en S et des quantités totales de S absorbé pour différentes espèces. Les valeurs portées dans le tableau résultent de la compilation de différentes références et correspondent au maximum de matière sèche ou à la récolte, sans prise en compte des racines.

La distribution de S entre les parties récoltées et les parties restituées d'une plante est également différente entre les cultures. Pour les céréales et les légumineuses, 50 à 60% du soufre total absorbé se trouve dans les grains. Dans le cas du colza, 25% du S est présent dans les graines. Pour l'oignon, environ 80% du S total absorbé est concentré dans le bulbe.

2.1.5. Origine du soufre absorbé par les végétaux

De multiples sources sont susceptibles de fournir du soufre aux plantes :

* le sol par la minéralisation des réserves organiques, peut fournir des quantités de 20 à 80 kg S par hectare. La minéralisation varie en fonction du type de sol (texture, pH,…), de la teneur en matière organique du sol, des restitutions organiques (résidus de cultures, produits organiques) et des conditions de milieu (température, humidité).

* La restitution des résidus de cultures (pailles de céréales et de colza, verts de betteraves, cannes de mais, fanes de pois et de pomme de terre), l'incorporation de cultures intermédiaires (crucifères, graminées), l'apport d'effluents d'élevage (fumiers, lisiers, fientes), d'effluents urbains (boues de station d'épuration, composts d'ordures ménagères et

de déchets verts), d'effluents agro-industriels (de sucrerie, distillerie, laiterie, conserverie) constituent également une source de soufre. La disponibilité en S contenu dans ces différents éléments pour la plante est en grande partie liée à leur rapport C/S. L'incorporation de pailles de céréales avec un rapport C/S élevé dans le sol entraîne à court terme une moindre disponibilité en S, liée à l'organisation microbienne (Wu et al., 1993). Pour des résidus de cultures avec des rapports C/S bas (pailles de colza, verts de betteraves), leur incorporation se traduit par une minéralisation nette de S.

* L'atmosphère : les plantes peuvent absorber le soufre précipité par les eaux de pluie ou absorber directement le SO_2 atmosphérique. Vis et Goujard (2005) indique un dépôt total se situant aux environs de 4 kg S par hectare, actuellement sur le territoire français.

* Les eaux d'irrigation : la teneur en sulfate de ces eaux est éminemment variable. Une eau d'irrigation qui contient jusqu'à 50 mg/l d'ions SO_4, constitue un apport de 16 kg S par hectare pour une irrigation totale de 100 mm.

* Les produits antiparasitaires : les antiparasitaires à base de soufre restent utilisés dans la lutte contre les oïdiums, le mildiou et les divers cryptogames des arbres fruitiers. Aujourd'hui, en grande culture les apports de S par les antiparasitaires sont négligeables ; par contre les anticryptogamiques à base de S peuvent apporter des quantités non négligeables aux vignes, vergers et cultures maraîchères.

* Les engrais minéraux contenant du soufre sont d'importants fournisseurs. Pour la campagne 2003-2004, au plan national, les statistiques de livraisons UNIFA aboutissent à 492 889 t SO_3 (soient 197 156 t S) auquel doit se rajouter le soufre apporté par les engrais au sulfate de magnésie, d'où une estimation totale de 571 000 t SO_3 (soient 228 400 t S). Trois engrais simples possèdent une haute teneur en soufre : le sulfate d'ammoniaque (24 % de S), le sulfate de potassium (18 % de S) et le superphosphate de chaux normal (11 % de S). Dans les années 1970, les agriculteurs ont employé des engrais de plus en plus concentrés et de plus en

plus purifiés : le superphosphate triple tend à remplacer l'ordinaire et l'ammonitrate 33,5 ou la perlurée 45 % supplantent le sulfate d'ammoniaque (ne dosant que 20 % d'azote).

Tableau 2 : Apports de soufre en France par les fertilisants minéraux (Vis et Goujard, 2005)

En tonnes SO_3	**97-98**	**98-99**	**99-00**	**00-01**	**01-02**	**02-03**	**03-04**
Azotés simples	179 160	177 729	184 179	179 020	184 181	194 938	208 851
Phosphatés simples	65 061	41 795	39 573	29 104	29 321	29 221	28 519
Potassiques simples	21 816	22 862	21 914	23 490	32 609	26 062	28 703
Composés	313 602	293 481	274 823	229 238	225 460	224 148	226 816
Magnésiens	85 128	64 193	111 339	87 000	82 934	81 308	78 339
TOTAL	**664 767**	**600 060**	**631 828**	**547 742**	**554 505**	**555 677**	**571 228**

La structure des fournitures de S par type d'engrais a fortement évolué au cours des 20 dernières années : les apports de S par les engrais phosphatés diminuent et ceux par les engrais azotés progressent, les engrais composés constituent le premier vecteur de S pour près de 50 % (Tableau 2). D'après l'industrie des fertilisants, les apports de S liés aux engrais phosphatés et aux NPK constituent en partie un apport de S involontaire, alors que S apporté par les engrais azotés simples (sulfate d'ammoniaque, solutions azotées soufrées, ammonitrates soufrés, sulfonitrates) résulte majoritairement d'un choix de l'agriculteur.

2.2. Le soufre dans le sol

2.2.1. Les réserves de soufre dans le sol

L'évaluation de la réserve en soufre total des sols montre que les teneurs varient dans d'assez larges limites : pour les sols agricoles dans les régions tempérées, la teneur de la couche de surface se situe entre 80 et 800 mg S par kg de sol, ce qui représente des réserves de 260 à 2600 kg S par hectare pour une épaisseur de sol de 25 cm. La teneur en soufre total des sols est fonction des propriétés physiques et chimiques des sols, du climat, de la végétation, de la topographie et des pratiques agricoles. Freney et Williams (1983) indiquent des teneurs de 20 à 2000 mg S par kg en surface pour les sols agricoles européens. Pour la plupart des sols agricoles des régions humides et semi-humides, les teneurs habituellement trouvées sont comprises entre 100 et 500 mg S par kg (Stevenson, 1986). Des quantités importantes de S sont observées dans des sols tourbeux, sols salins, sols marécageux et des sols calcaires de régions arides et semi-arides (Mc Grath et al., 2002).

Pour les sols français, Simon-Sylvestre (1969) a proposé 3 groupes en fonction du pH du sol :

- un groupe comprenant les terres acides des massifs cristallins, les terres sableuses de Sologne, les alluvions légères, les boulbènes et les terres rouges à châtaigniers. La plupart de ces sols est pauvre en matière organique avec des teneurs en S inférieures à 0.10 ‰.
- un groupe avec les sols neutres ou saturés du Bassin Parisien, de la Limagne, l'Alsace et les vallées de la Loire et de la Garonne, pour lequel les teneurs en S varient entre 0.10 et 0.25 ‰.
- un groupe englobant tous les sols calcaires de Champagne, Poitou-Charentes, Bourgogne et Lorraine ; avec des teneurs en matière organique souvent supérieures à 3 %, les teneurs en S atteignent 0.3 à 0.4 ‰.

2.2.2. Les principales formes du soufre dans le sol

2.2.2.1. Le soufre organique

Plus de 90 voire 95 % du soufre total présent dans le sol est sous la forme organique, lié aux matières organiques (Freney, 1986). En général, S total et S organique sont étroitement corrélés avec N total et C organique dans les sols (Kirchmann et al., 1996). Selon Studer (1984), il existe un rapport assez constant et typique entre le carbone, l'azote et le soufre totaux des sols C/N/S = 100/10/1. Les teneurs en S organique du sol décroissent habituellement avec la profondeur en rapport avec la baisse du taux de matière organique. La grande partie du S organique dans les sols est dans un mélange hétérogène d'organismes du sol, de résidus végétaux partiellement décomposés, animaux et microbiens et des fractions minérales du sol. La nature complexe du S organique est loin d'être pleinement élucidée (Zhao et al., 1996a). Ceci est dû principalement à l'absence de méthodes appropriées d'extraction et de séparation des composés organiques du sol sans altération de leur composition chimique et de leur structure. Cependant, les méthodes analytiques couramment utilisées permettent de différencier trois grandes fractions de S organique dans les sols :

- le S réductible à l'acide iodhydrique (HI) représente les composés soufrés non directement liés au carbone, et comprend surtout les sulfates esters (-C-O-S-) et les sulfamates (-C-N-S-). Le S réductible à HI est facilement hydrolysé en sulfate minéral par des acides et bases. Cette fraction est considérée comme la fraction la plus labile du S organique (Freney et al., 1971) et dans beaucoup de sols les analyses montrent qu'elle représente en moyenne 50 % (variation de 30 à 70 %) du S organique (Freney, 1986).
- le C-lié au soufre inclut les acides aminés soufrés, disulfides, mercaptans, sulfones et acides sulfoniques (Freney, 1986).
- une fraction S résiduelle.

Biomasse microbienne

Les teneurs en S des micro-organismes (bactéries, actinomycètes et champignons) varient fortement entre <0.1 % à 1 % (Alexander, 1977), valeurs similaires à celles des plantes. La biomasse microbienne S (estimée par la méthode fumigation-extraction) représente 1 à 3 % du S total des sols (Saggar et al., 1981a ; Chapman, 1987 ; Wu et al., 1994). Elle est étroitement corrélée à la biomasse C et le rapport C/S varie de 50 à 150 (Saggar et al., 1981a ; Chapman, 1987 ; Wu et al., 1994). Cette fraction de S joue un rôle moteur dans le turnover de S dans les sols.

2.2.2.2. Le soufre minéral

Le soufre minéral du sol comprend principalement les sulfates solubles, adsorbés, insolubles et les sulfides. Dans les sols agricoles où les conditions d'aérobiose prédominent essentiellement, la presque totalité du soufre minéral est sous forme sulfate (ion SO_4^{-}). Le compartiment sulfate représente quelques % du soufre total et est disponible pour la plante. La quantité de sulfate dans le sol varie au cours de l'année en fonction du bilan entrées-sorties entre les apports atmosphériques, la décomposition des matières organiques, les apports d'engrais, la lixiviation, l'absorption par la plante et l'activité microbienne (Eriksen et al., 1998), soit de quelques kg à quelques dizaines de kg par hectare (2 à 80).

La capacité des sols à adsorber le sulfate varie généralement avec la teneur en argile du sol, le pH, les cations associés aux colloïdes minéraux et la concentration en sulfate dans la solution du sol (Harward et Reisenauer, 1966). Parce que l'adsorption du sulfate se produit pour des pH faibles (< 6), l'adsorption est négligeable dans la plupart des sols agricoles. L'adsorption du sulfate est un processus réversible. Dans les sols non calcaires, les hydroxydes de fer et d'aluminium et les feuillets des minéraux d'argile silicatés fournissent les sites d'adsorption

(Saggar et al., 1998). Dans les sols calcaires, le sulfate peut précipiter avec le carbonate de calcium et représenter une part importante (Scherer, 2001).

Dans le cas de sols en anaérobiose ou de gleyification, le sulfide peut représenter la forme principale du soufre minéral pour ces types de sols (Saggar et al., 1998).

Le soufre élémentaire S n'est pas présent à l'état naturel dans le sol, excepté s'il a été apporté sous forme d'engrais. Ce soufre est oxydé par les micro-organismes (McGrath et al., 2002) et la réaction généralement admise est la suivante : $S^0 \rightarrow S_2O_3^{--} \rightarrow S_4O_6^{--} \rightarrow SO_3^{--} \rightarrow SO_4^{--}$

Soufre élémentaire → Thiosulfate → Tétrathionate → Sulfite → Sulfate

2.2.3. Le turnover du soufre dans le sol

2.2.3.1. Minéralisation du soufre organique

La matière organique présente dans le sol, qu'elle soit endogène (humus et biomasse microbienne) ou exogène (résidus de culture, produits organiques divers) est soumise à dégradation par une microflore très diversifiée de bactéries et de champignons. La minéralisation est le processus par lequel le S organique est décomposé et libéré sous forme de S minéral. La quantité de S organique potentiellement minéralisable et la vitesse de minéralisation sont deux composantes déterminantes de la disponibilité de S du sol pour la plante.

Deux voies ont été suggérées pour la minéralisation de S organique (McGill et Cole, 1981) :

- la voie biochimique correspond à l'hydrolyse extracellulaire du S organique liée à une catalyse par des enzymes extracellulaires. Le S organique de la fraction ester peut être minéralisée de cette façon. Les sulfatases du sol sont une classe d'enzymes connues pour hydrolyser les ester-S en sulphate-S (Tabatabai et Bremner, 1970), et sont principalement d'origine microbienne (Kertesz, 1999). Jusqu'à présent, l'arylsulphatase (ARS) est considérée

comme l'enzyme-clé de la minéralisation. Les sulfatases peuvent hydrolyser directement les esters de sulfate et on considère donc que cette voie de minéralisation est contrôlée par la disponibilité en soufre plutôt que par le turnover biologique de la matière organique. En fait les voies biologiques et biochimiques de la minéralisation ne sont pas indépendantes, puisque la production d'enzymes est d'origine microbienne (Ghani et al., 1992).

- La voie biologique correspond à la production de S à partir des composés organiques liée à l'oxydation du carbone par les micro-organismes du sol. Le processus est contrôlé par le besoin en énergie et la disponibilité en carbone. Le S organique lié au carbone est minéralisé principalement de cette façon.

  La presque totalité des études pour quantifier la minéralisation du S organique des sols concernent des études de laboratoires utilisant des méthodes d'incubations. Les taux de minéralisation de S organique rapportés par divers auteurs varient considérablement (Zhao et al., 1996a). Cette forte variabilité n'est pas seulement liée aux différences de propriétés des sols, mais aussi aux conditions d'incubation. Beaucoup d'études utilisant des systèmes « fermés » d'incubation ont montré que les quantités de sulfates dans les sols peuvent augmenter, rester stables ou diminuer durant la période d'incubation, en fonction de l'équilibre entre minéralisation et organisation (Tabatabai et Al-Khafaji, 1980 ; Stevenson, 1986). Pour s'affranchir du processus d'organisation, Tabatabai et Al-Khafaji (1980) ont proposé un système « ouvert » d'incubation, qui consiste à déplacer le sulfate minéralisé par lixiviation avec une solution saline à intervalles de temps réguliers durant l'incubation. Ce système permet de simuler l'absorption du sulfate par une plante et la lixiviation. Le système « ouvert » conduit à des quantités de S minéralisées beaucoup plus élevées que le système « fermé » (Maynard et al., 1983).

Tableau 3 : Minéralisations comparées du soufre et de l'azote suivant deux techniques d'incubation (Maynard et al., 1983).

	Incubation en système ouvert		Incubation en système clos	
	SO_4-S	NO_3-N	SO_4-S	NO_3-N
		mg / kg de sol		
Sol A	11.5 (5.9)	34.4 (2.3)	-0.7 (-)	32.7 (2.2)
Sol B	11.8 (5.4)	57.8 (2.6)	1.3 (0.6)	53.8 (2.4)
Sol C	11.3 (3.6)	32.6 (1.6)	1.4 (0.4)	34.8 (1.7)

(Les chiffres entre parenthèses donnent les pourcentages de S et N minéralisés en 17 semaines d'incubation à 20°C et 80 % d'humidité).

La critique majeure au système « ouvert » est l'impact de la lixiviation qui modifie les conditions physico-chimiques du sol (saturation, modification du pH et de la porosité, pertes des éléments comme N, P,…).

La minéralisation de S est, comme celle de C et N sous le contrôle de la température et de l'humidité.

2.2.3.2. Organisation du soufre minéral

C'est le processus parallèle, mais opposé, à la minéralisation. L'organisation est la conversion par les micro-organismes du S minéral en S organique. Elle correspond à l'assimilation de S par des micro-organismes diversifiés, qui assimilent la forme sulfate pour d'abord former des composés organiques relativement simples (comme les acides aminés soufrés dans les protéines), puis ces composés soufrés seront intégrés dans des composés organiques plus complexes dans le sol. La croissance et l'activité des micro-organismes dépendent donc de la présence de formes de carbone facilement décomposables : résidus végétaux, racines en décomposition, produits organiques apportés.

A court terme, le processus d'organisation affecte la disponibilité en sulfate du sol, et peut devenir un processus concurrentiel de l'absorption par la plante. La dynamique et les quantités totales de S impliquées au cours de la décomposition varient en fonction de la nature des résidus, en particulier avec leur teneur en soufre. L'incorporation de résidus avec un rapport C/S élevé se traduit par une organisation nette (diminution de la quantité de sulfate dans le sol). La biomasse microbienne empruntera du S au milieu car le rapport C/S des corps microbiens se situe entre 50 et 150 (comme mentionné précédemment). Barrow (1960) estime qu'il y a libération de sulfate quand le rapport C/S des résidus organiques apportés est inférieur à 200 et qu'il y a organisation si le rapport C/S est supérieur à 400.

Des travaux ont permis de préciser l'importance de l'organisation des sulfates d'un engrais dans les différents compartiments organiques soufrés du sol, en utilisant les techniques de fractionnement du soufre organique ainsi que l'isotope ^{35}S (Diot, 1991). Comme pour l'azote, une organisation rapide est observée. Les sulfates organisés se répartissent dans les deux compartiments principaux : le soufre ester et le soufre lié au carbone, avec une prédominance pour le soufre ester, qui semble être le plus labile. Cette organisation est accentuée par un apport d'azote minéral (Diot et al., 1998). Toutefois, malgré une organisation rapide et importante (plus de 50 % de l'apport de S est organisé en une semaine), les valeurs élevées du coefficient réel d'utilisation par la plante, compris entre 65 et 70 %, indiquent une bonne utilisation de l'engrais par la plante.

2.2.3.3. Facteurs agissant sur le turnover du soufre dans le sol

L'intensité des processus de transformation du soufre dans le sol et les flux de S qui en résultent dépend de différents facteurs. La disponibilité en carbone régit la disponibilité potentielle du S sous forme minérale dans le sol (processus d'organisation/minéralisation) à court terme, et elle influence la taille du pool actif de matière organique du sol à moyen et

long terme. Les facteurs abiotiques liés au climat (température, humidité…) et aux caractéristiques physiques, chimiques et biologiques du sol (texture, pH…) jouent essentiellement sur la vitesse des transformations et l'occurrence ou non des pertes de soufre par lixiviation en particulier. Tabatabai et Al-Khafaji (1980) ont obtenu un Q_{10} (coefficient qui rend compte de l'effet de la température sur la vitesse de minéralisation) moyen de 1.9 pour la minéralisation de S entre 20 et 35 °C dans 12 sols de cultures et prairies. Une valeur similaire a été obtenue par Pirela et Tabatabai (1988) et Ghani et al. (1991). Pour des sols de cultures en Belgique, Verlinden (2002) aboutit à une valeur de Q_{10} de 1.8, 2.0 et 2.4 respectivement pour la minéralisation du sulfate, du soufre total extractible et de l'azote minéral, entre 15 et 25 °C. Selon les études, l'optimum d'humidité pour la minéralisation de S semble se situer entre 60 et 80 % de la capacité au champ du sol (Chaudhry et Cornfield, 1967; Verlinden, 2002).

Quel que soit le facteur, il peut être influencé par les pratiques agricoles. Il convient de rappeler qu'un sol cultivé est un milieu en constante évolution liée aux pratiques agricoles qui peuvent jouer sur le cycle du soufre. On peut citer :

- l'occupation des terres : en agissant sur le mode et l'intensité d'exploitation du sol par les systèmes racinaires (inter-culture, plantes annuelles ou pérennes…), la quantité, la nature et le rythme des restitutions organiques (dont les résidus de culture).
- la gestion du soufre dans le système sol-plante au niveau des entrées (fertilisation minérale ou organique) et des sorties (exportations par les cultures).

Les études montrent que la minéralisation nette du soufre est toujours plus élevée dans les sols cultivés que dans les sols non cultivés (Maynard et al., 1985 ; Castellano et Dick, 1990 ; Li et al., 2001), probablement liée à l'effet « rhizosphère ». L'intensité de la minéralisation est

d'autant plus élevée que les restitutions organiques sont importantes, liée à l'augmentation du pool de S organique du sol (Williams et Haynes, 1992 ; Knights et al., 2001).

- L'utilisation de techniques comme l'irrigation et le drainage peuvent influer la minéralisation de S en modifiant les conditions d'environnement dans le sol (température, humidité, teneur en oxygène, transfert de solutés,…).

2.3. Autres flux relatifs au cycle du soufre

2.3.1. Pertes en soufre du sol

2.3.1.1. Lixiviation

La lixiviation du soufre est potentiellement le flux le plus important des pertes en S du sol. La mobilité du sulfate est aussi élevée que celle du chlorure ou du nitrate. Les études en cases lysimétriques montrent une très forte variabilité des pertes, entre 1 et 125 kg S par hectare et par an. Cette variabilité est liée au type de sol, aux pratiques agricoles, aux quantités de soufre apportées et surtout aux conditions climatiques. A l'échelle européenne, les pertes se produisent principalement en automne et en hiver, lorsque les sols sont revenus à la capacité au champ. En France, des dispositifs de lysimétrie, sur lesquels les sulfates ont été analysés pendant des périodes de temps suffisamment longues, ont permis de mettre en relation les apports et les pertes moyennes en soufre dans des conditions variées de sol et de niveaux d'apports par les fertilisants. Les résultats montrent que lorsque les apports sont importants, en sol cultivé, les pertes par drainage atteignent le même ordre de grandeur que les apports (Muller et Ballif, 1991).

Tableau 4 : Apports et pertes moyennes en soufre, en kg/ha de S, mesurées dans divers lysimètres en France

Lieux et Périodes	Types de sols	Précipitations mm	Apports par les engrais	Pertes par lixiviation
Quimper 1954-1965	Granitique	1090	?	20
Versailles 1973-1988	Limoneux	660	16	30
Clermont-Ferrand 1959-1966	Argilo-calcaire	570	76	77
Châlons sur Marne 1977-1982	Rendzine	630	135	136
Le Magneraud 1986-2004	Terre de groies	650	12	20

Le dispositif des lysimètres du Magneraud, situé dans l'Ouest de la France (Charente-Maritime) sur des terres de groies (avec 120 mm de réserve utile) montre, sur 20 ans de suivi, l'importance de la lixiviation du sulfate avec la pluviométrie automnale et hivernale (Bouthier et al., 2007). Pour une pluviométrie inférieure à 300 mm du 1er octobre au 1er mars, la perte de sulfate est quasiment nulle alors que la totalité du stock de sulfate (environ 25 kg de S par hectare) est lixivié pour des pluviométries supérieures à 550 mm.

2.3.1.2. Erosion et ruissellement

Les pertes par érosion sont généralement très faibles dans les sols agricoles des régions tempérées qui ont une pluviométrie modérée, avec une topographie peu marquée et une bonne couverture végétale (Eriksen et al., 1998). Les pertes de S par érosion dans de tels sols sont estimés à environ 0.1 kg S par hectare et par an.

Les pertes de S par ruissellement peuvent apparaître dans des parcelles agricoles à forte pente qui ont reçu très récemment des apports d'engrais soufrés ou des effluents d'élevage.

2.3.1.3. Pertes gazeuses

Il est admis que les pertes en soufre des sols agricoles par voie gazeuse sont négligeables. Andreae et Jaeschke (1992) ont montré des pertes de S à partir du sol et de la végétation sous forme de sulfure d'hydrogène, sulfure de diméthyle, disulfure de carbone.

2.3.2. Apports de soufre au sol

2.3.2.1. Retombées atmosphériques

Aujourd'hui, les sols reçoivent beaucoup moins de soufre issu des apports atmosphériques. Dès les années 1970, l'Europe a entrepris de lutter contre les pluies acides en imposant aux industriels des réductions drastiques d'émissions de dioxyde de soufre SO_2. En 25 ans, la pollution atmosphérique a été divisée par six et la diminution devrait se poursuivre du fait de la mise en place des normes supprimant le soufre dans les carburants. La figure 2 montre la réduction des émissions de SO_2 dans l'atmosphère, de 1980 à 2005 selon le CITEPA (Centre Interprofessionnel Technique de la Pollution Atmosphérique).

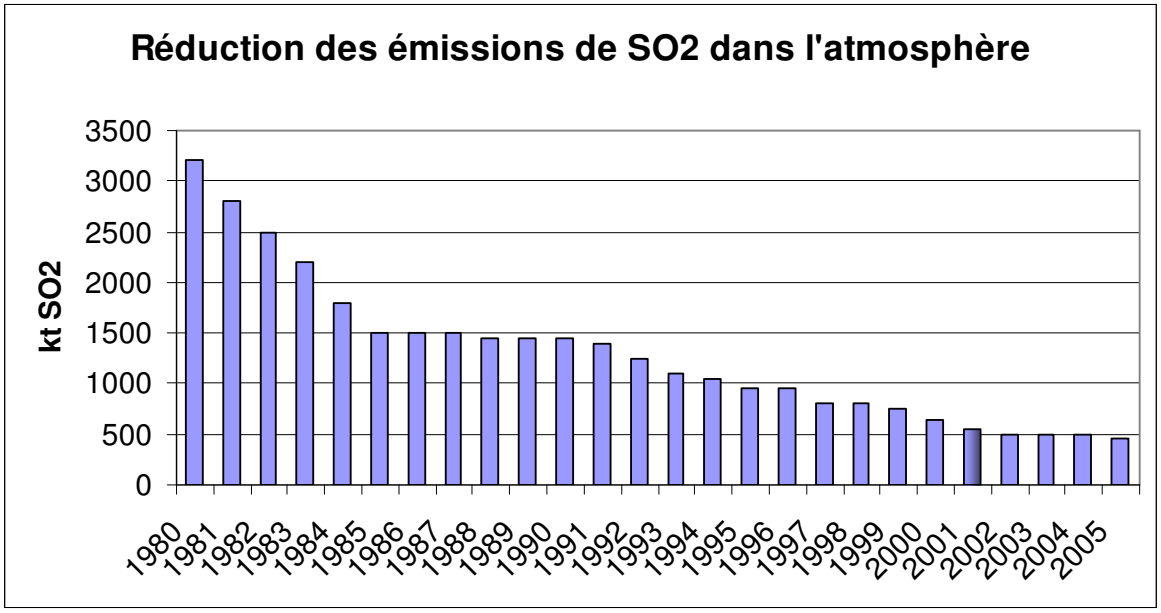


Figure 2 : Réduction des émissions de SO_2 dans l'atmosphère (Source CITEPA)

En 1997, les dépôts totaux de soufre se situaient à 6 kg de S par ha. On peut penser qu'aujourd'hui, ce chiffre atteint 4 kg de S par ha (Vis et Goujard, 2005**).** Toutefois, il existe une forte hétérogénéité spatiale, de moins de 2 kg de S par hectare à plus de 16 kg, liée à la présence d'activités émettrices de S dans l'atmosphère (raffineries, centrales thermiques, combustions diverses…). Le peu de données disponibles concernant ces retombées ne permet pas de dresser une carte précise pour la France. Néanmoins, les cartes disponibles à l'échelle européenne permettent d'identifier certaines régions situées sous les vents dominants d'activités émettrices où les retombées de S sont importantes, comme par exemple en France la Seine-Maritime et le pourtour de l'étang de Berre (Bouthier et al., 2007).

2.3.2.2. Apports par les fertilisants minéraux et les produits organiques

Comme il a été mentionné précédemment (paragraphe 2.5.1.), on trouve la forme sulfate associée à de nombreuses formules d'engrais simples ou composés : engrais azotés solides ou solution azotée soufrée, superphosphates normal ou concentré, engrais potassiques et magnésiens, etc.

Les produits organiques comme les effluents d'élevage, les effluents urbains et agroindustriels peuvent apporter du soufre au sol. Peu de données existent dans la littérature, car la détermination de la teneur en soufre de ces différents produits n'est que rarement demandée aux laboratoires d'analyses. On peut donner pour quelques produits les valeurs suivantes (F Marcovecchio, Laboratoire Départemental d'Analyses et de Recherche de l'Aisne, communication personnelle) :

Fumier, lisier :	0.10 à 0.15 % SO_3	(soit 0.04 à 0.06 % S)
Vinasses de sucrerie :	1.3 à 1.9 % SO_3	(soit 0.52 à 0.76 % S)
Boues urbaines :	3.1 % SO_3	(soit 1.24 % S)
Boues compostées :	0.5 à 1.0 % SO_3	(soit 0.2 à 0.4 % S)
Tourbe brute :	0.7 % SO_3	(soit 0.28 % S)

Certains produits organiques ont des teneurs élevées en soufre et peuvent contribuer de manière significative à la nutrition soufrée des cultures.

2.4. La fertilisation soufrée des cultures

2.4.1. Les préconisations de fertilisation pour le colza et les céréales

Les organismes de Développement Agricole et de conseil de tous les pays européens ont adopté un système empirique en matière de fertilisation soufrée, basé sur la culture, le rendement potentiel, le type de sol et le système de culture. En France, les recommandations concernent essentiellement le colza et les céréales. Par exemple pour le **colza,** le CETIOM préconise un apport systématique de 75 kg SO_3 par hectare (soit 30 kg de S). Pour cet institut, cette dose constitue un bon compromis pour satisfaire les besoins de la culture et limiter le risque d'augmentation de la teneur en glucosinolates des graines récoltées. Pour le stade, il est conseillé de faire l'apport de S au début de l'élongation des tiges.

Il est recommandé un apport préventif systématique sur le colza, car une carence peut se traduire par des diminutions de rendement pouvant atteindre 10 à 20 quintaux par hectare dans les cas les plus graves. Pour **les céréales**, ARVALIS a proposé une grille de préconisation sur le blé tendre, le blé dur et l'orge d'hiver afin d'éviter les carences (tableau 5). Cette grille permet de déterminer l'opportunité d'un apport de soufre en se basant sur quatre critères : le type de sol, la pluviométrie automnale et hivernale, l'apport de S sur la culture précédente et l'historique de fertilisation organique.

Les engrais azotés soufrés, préconisés par ARVALIS, constituent la forme d'apport la plus commode, compte tenu de la complémentarité des éléments N et S dans la nutrition des céréales. **Pour les autres cultures** (pomme de terre, cultures légumières,…) très peu de travaux, ni de préconisations sont recensées à ce jour.

Tableau 5 : Grille de décision d'un apport de soufre sur céréales d'hiver et de printemps (cas des situations sans apports réguliers de fumier)

		Apport (kg S/ha)	
	Pluie 1/10 au 1/03	Apport Sur précédent	Aucun apport S sur précédent
Risques élevés : sols superficiels filtrants	>300 mm	16	20
Sols argilo-calcaires superficiels, sableux	<300 mm	8	12
Caillouteux, limons caillouteux superficiels			
Risques moyens : sols argilo-calcaires	>500 mm	12	16
Moyennement profonds, limons battants	300 à 500 mm	8	12
Froids humides	<300 mm	0	8
Risques faibles : sols profonds sains,	>300 mm	8	12
Limons argileux profonds, limons francs,	300 à 500 mm	0	8
Sols argileux	<300 mm	0	0

2.4.2. Les outils de diagnostic de la nutrition soufrée des cultures

Des indicateurs basés sur des analyses de terre ou de plantes ont été proposés pour pronostiquer ou diagnostiquer un risque de déficience en soufre.

2.4.2.1. Les indicateurs « sol »

Walker et Dawson (2002) considèrent que les techniques analytiques relatives au sol pour prédire la disponibilité en S ne sont pas très fiables. Les analyses de sol donnent une mauvaise prédiction de la réponse à la fertilisation soufrée, car la presque totalité du S dans le sol est sous forme organique, qui doit être minéralisée pour être disponible. La cinétique de minéralisation, fonction de la température et de l'humidité du sol est difficile à prévoir pour prédire quantitativement et dans le temps la disponibilité de S.

En France, ARVALIS propose toujours la mesure de S extrait par la méthode Scott (1981), qui permet d'évaluer la quantité de S disponible à court terme pour la culture (sulfate soluble

et adsorbé). Cette mesure peut être réalisée en fin d'hiver à partir d'un prélèvement de terre dans les horizons 0-30 cm et 30-60 cm ou dans la couche labourée seule pour les sols caillouteux ou superficiels. Le risque de carence en S est pronostiqué pour un stock inférieur à 24 kg S/ha sur 60 cm de profondeur dans le premier cas, et pour une teneur inférieure à 6 mg de S/kg dans les sols superficiels. Toutefois, cette méthode s'avère moyennement discriminante.

Le soufre sous forme sulfate dans le sol pourrait être dosé dans les parcelles où une mesure de reliquat d'azote minéral est réalisée en vue de l'application de la méthode du bilan prévisionnel. Cet indicateur a jusque-là été très peu référencé.

2.4.2.2. Les indicateurs « plante »

- *Le diagnostic foliaire à la floraison* peut constituer un bon moyen de diagnostic de l'état de nutrition soufrée des céréales. Il peut être couplé à la mesure du rapport N/S d'une plante. Des niveaux satisfaisants de teneur en S compris entre 0.2% et 0.4% de la matière sèche et des rapports N/S de 7/1 à 15/1 sont rapportés par Walker et Dawson (2002). Bouthier (2007) estime que le diagnostic foliaire à la floraison sur céréales apparaît comme l'indicateur le plus apte à détecter une déficience, mais on ne peut pas l'utiliser pour intervenir sur la culture en cours car cette mesure est trop tardive. Toutefois, si elle est répétée au cours de deux ou trois campagnes, la mesure permet de cerner le risque de carence dans la parcelle; le seuil de risque de déficience en S est de 0.20% dans la matière sèche. Pour le colza, le Cetiom donne des teneurs de 0.5 à 0.7% dans les limbes au stade D1.
- *Le test malate sulfate* (Blake-Kalff et al., 2000) est proposé en routine depuis 2002 (par le laboratoire anglais de Hill Farm Court Research). Il est largement utilisé en Angleterre sur colza et céréales. Ce test est basé sur la relation étroite entre l'anion organique malate et le sulfate, qui sont présents dans les tissus foliaires. Le test peut être interprété sur la base de la

même valeur-seuil du tallage à la fin de la montaison. C'est le seul indicateur sur plante permettant un diagnostic à un stade suffisamment précoce pour intervenir le cas échéant (tableau 6).

Tableau 6 : Grille de diagnostic basé sur le test malate sulfate

Rapport malate/sulfate	diagnostic	perte de rendement probable
< 1.5	pas de carence	0 %
1.5 – 2	limite de carence	0 – 5 %
2 – 30	carence	0 – 10 %
> 30	carence sévère	10 – 40 %

- *Le dosage du sulfate dans le jus de base de tige* au stade deux nœuds de la céréale est développé par Challenge Agriculture depuis le début des années 2000 dans le cadre de la méthode Nutrichek®. Un premier apport de S fin tallage est géré selon une grille proche de celle d'ARVALIS. Une mesure de la teneur en sulfate dans le jus de base de tige à deux nœuds permet de décider d'un éventuel ajustement à ce stade. Les expérimentations ont montré une discrimination satisfaisante des situations déficientes. Le seuil en dessous duquel un risque de déficience est à craindre serait compris entre 150 et 250 mg SO_4/litre, mais les références disponibles ne permettent pas de le caler précisément (Bouthier et al., 2007).
- Le GPN® soufre est en cours de mise au point par la Société Grande Paroisse sur la base d'un diagnostic par *réfractométrie réflectométrie*. Sa mise en œuvre serait analogue à celle du GPN® azote : un étalon (de quelques mètres carrés) est surfertilisé en S (24 kg S/ha) dès la fin du tallage, et la mesure réalisée à partir du stade deux nœuds permettrait de faire un ajustement. Enfin, il est possible qu'un diagnostic par *fluorimétrie* débouche à l'avenir sur des tests pertinents pour le soufre.

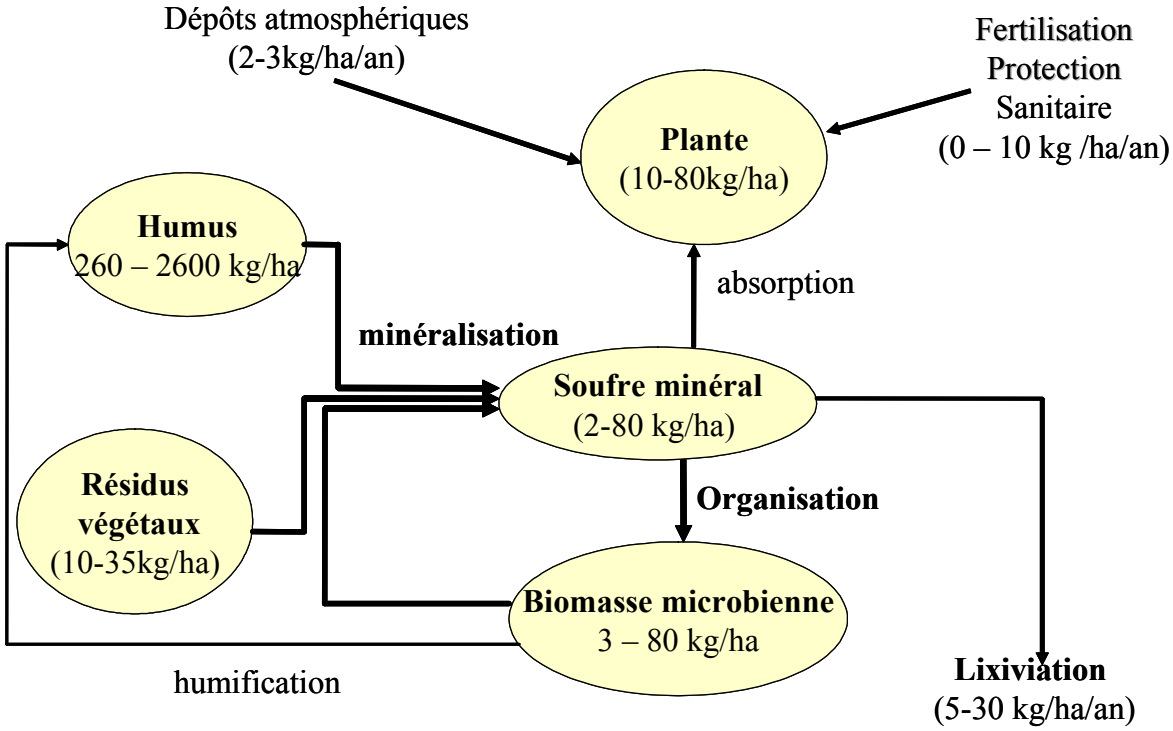


Figure 2: Modèle simplifié du cycle du soufre dans le système sol-plante-atmosphère. Les données indiquent les ordres de grandeurs pour les compartiments et les flux annuels entrant et sortant. (Données issues de la bibliographie)

2. 5. Conclusion

Comme le montre cette synthèse, de nombreuses connaissances sont disponibles sur le cycle du soufre dans le système sol-plante-atmosphère, les biotransformations dans le sol, les flux vers la plante et l'hydrosphère (Figure 2). Un nombre important des études mentionnées sont contemporaines de celles effectuées sur l'azote, et se sont développées dans l'optique de mieux gérer la fertilisation (années 60 à 80). Cependant, contrairement à l'élément azote, ces études n'ont pas abouti dans les années 1960-1970 à des méthodes raisonnées et opérationnelles, notamment l'approche par bilan entrées-sorties, méthodes qui sous-tendent la conceptualisation (modèles) et la quantification des différents postes (ou processus) tels que la minéralisation, l'organisation, l'absorption, les pertes, etc. Ceci n'est pas dû à l'absence de besoins en S par les cultures, mais à cette époque, à la combinaison d'apports importants par voie atmosphérique et d'apports indirects et systématiques avec les engrais minéraux, ainsi que l'absence de considération d'impacts environnementaux associés à des excédents éventuels de bilan soufré. Il n'y avait donc pas d'enjeux agronomiques, économiques et environnementaux pour poursuivre les recherches sur le soufre. Comme nous l'avons rappelé, le contexte a progressivement mais significativement changé en raison de la diminution des dépôts atmosphériques, de l'évolution de la formulation des engrais minéraux et de la volonté d'un meilleur usage des intrants chimiques. Ceci explique le regain d'intérêt des travaux de recherche (depuis le milieu des années 1990) sur la dynamique du soufre, le rôle des communautés microbiennes sur les transformations, les approches isotopiques utilisées pour quantifier le devenir des engrais, les flux bruts de minéralisation et organisation de S, et les déterminants de son utilisation par la plante. Les travaux de recherche présentés dans ce mémoire s'inscrivent dans cette dynamique.

3. Objectifs et démarche d'étude

L'objectif général du travail de thèse est l'étude de la biodisponibilité du soufre dans les sols de différents écosystèmes naturels et cultivés. Plus précisément, il s'agit de quantifier la minéralisation du soufre en relation avec la décomposition des matières organiques et de contribuer à la compréhension des flux de minéralisation-organisation couplés C, N et S dans les sols.

Les principales hypothèses relatives à ce travail sont les suivantes :

(1) L'essentiel de la minéralisation du soufre est associée à l'activité des populations microbiennes dégradant les matières organiques. En d'autres termes nous faisons l'hypothèse que la minéralisation biologique est prépondérante sur la minéralisation 'biochimique'. Une étude conjointe de la dynamique de S, et de celles de C et N doit étayer cette hypothèse et donc permettre de mieux comprendre la dynamique de S, en relation avec celles du carbone et des activités microbiennes hétérotrophes.

(2) Comme dans le cas de l'azote, le soufre peut être limitant de l'activité microbienne globalement ou instantanément, si la demande en soufre des microorganismes est élevée comparée à la disponibilité des sources. Cette demande peut être élevée si la quantité de substrat à décomposer est élevée et/ou si le substrat, rapidement décomposable, crée une demande instantanée en S élevée. La disponibilité en sulfate pour les microorganismes peut aussi modifier l'assimilation de S (ou organisation) sans modifier la dynamique du carbone comme cela est constaté pour l'azote.

(3) La nature des restitutions organiques (ici des résidus végétaux) modifie la dynamique de S dans le sol, d'une part parce que ceux-ci sont une source de S et d'autre part parce que leur qualité biochimique détermine les cinétiques de minéralisation et la demande microbienne en S. La distinction entre source de S et source de C pour les microorganismes

hétérotrophes assimilant le soufre, est importante, dans l'optique d'une compréhension des cycles internes des éléments associés à la décomposition des résidus, et leur modélisation future.

La démarche d'étude adoptée pour répondre à ces questions, a été (i) de mener des expérimentations en conditions contrôlées (ii) de faire varier les facteurs un à un (type de sol, nature des résidus, disponibilité du sulfate), (iii) d'aborder conjointement les cycles de C, N et S . L'objectif d'une telle approche est de dégager des lois de réponse aux facteurs, susceptibles d'être utilisées dans la modélisation de la disponibilité du sulfate dans les sols.

Dans le cadre de ce travail une collaboration a été engagée avec l'équipe « Rhizosphère » (E Benizri, S. Piutti, S. Deschaumes) de l'UMR INPL-INRA Agronomie et Environnement de Nancy-Colmar pour identifier en parallèle les communautés microbiennes du cycle de S et leurs activités (activité arylsulfatase, organisation de S). J'ai participé à cette collaboration qui s'est appuyée sur des sous échantillons de sol issus de mes expérimentations au laboratoire, j'ai participé à certaines mesures effectuées à Nancy et j'ai encadré un étudiant de Master 2 (2008) sur le sujet. Dans ce mémoire, j'ai utilisé les mesures d'activité arylsulfatase pour compléter l'approche utilisée ici, notamment les mesures de biomasse-C. L'idée de présenter ces données est d'observer si des disponibilités différentes en S (chapitre 3) ou des cinétiques différentes de demande en S, produites par des substrats de qualité biochimique différentes (chapitre 4) conduisent à des divergences entre niveau d'activité enzymatique et niveau de biomasse hétérotrophe.

Le document de thèse est organisé de la façon suivante :

- **Le chapitre 1** présente le contexte et la démarche d'étude de ce travail, ainsi que l'état des connaissances sur le cycle du soufre et la fertilisation soufrée dans le système sol-plante-atmosphère. Afin d'éviter les répétitions, ce chapitre présente plus rapidement les mécanismes de minéralisation-organisation de S, qui sont détaillés et discutés dans les autres chapitres.

- **Le chapitre 2** présente, sous forme d'un article soumis pour publication, les résultats de l'étude sur la minéralisation du carbone, de l'azote et du soufre d'une gamme de 22 sols variant par leurs caractéristiques physiques et chimiques et leur histoire culturale. A partir de la base de données obtenue sur 22 sols, une équation de prédiction de la minéralisation du soufre en fonction de caractéristiques du sol est proposée et discutée.

- **Le chapitre 3** étudie les effets de la disponibilité en soufre sur la décomposition de résidus végétaux (tiges de blé et tiges de colza) et la minéralisation de S associée dans un sol limoneux (Mons). La disponibilité de S pour la décomposition a d'abord été modulée par l'ajout initial d'une quantité croissante de sulfate pour une quantité unique de résidus de colza apportée. Comme tous les traitements étaient non limitant pour S, nous avons au cours d'une deuxième expérience modulé la disponibilité en S, en apportant une quantité croissante de substrat à décomposer dans un sol ne recevant pas de sulfate. Afin de réduire la teneur en S du résidu apporté, nous avons utilisé de la paille de blé.

- **Le chapitre 4** présente les effets de la décomposition de 4 résidus de plantes représentatives de situations culturales différentes: tiges de blé (plante de grande culture à maturité), fétuque (espèce prairiale), moutarde (cultures intermédiaire pièges à nitrate) et feuilles de hêtre (forêt), variant par leur composition biochimique et teneur en S. Le sol utilisé est identique à celui du chapitre 3. L'analyse des relations est étendue au résidu de colza (données issues du chapitre 3). Cette étude est réalisée en conditions non limitantes en azote et en soufre pour la décomposition. Les relations entre caractéristiques biochimiques initiales et décomposition sont établies ainsi que les relations entre la minéralisation et organisation de S et la nature des résidus.

- **Le chapitre 5** est une discussion générale, qui d'une part résume et discute les principaux résultats expérimentaux obtenus, et d'autre part, tente à partir des données expérimentales obtenues et de la bibliographie de modéliser la dynamique de S dans les sol et d'utiliser les connaissances pour un raisonnement de la fertilisation soufrée en systèmes cultivés. L'approche par bilan, développée depuis plusieurs décennies pour l'élément AZOTE, est adaptée au SOUFRE et discutée ici. Elle est appliquée à différents scénarios de culture.

Chapitre 2

Estimation of sulphur mineralization and relationships with nitrogen and carbon in soils

Article soumis à Biology and Fertility of Soils

1. Introduction

One of the main environmental difficulties in farming is the management of nutrient elements. Sulphur is an essential element for plants and animals, playing an important role in many reactions in every living cell. Sulphur requirements are similar to those for phosphorus and magnesium. The significant reductions in SO_2 emissions as a result of national policies to reduce concentrations of primary air pollutants, the use of high-analysis, low-S fertilizers and the declining use of S-containing fungicides, at a time when yields have been increasing, have resulted in a negative S balance in many parts of the world (Scherer 2001). Zhao et al. (2002) reviewed crop responses to S fertilization in Europe and concluded that S is now one of the most limiting nutrients for agricultural production in many European countries. But although S defiencies have become common in recent years, compared to N there has been little conceptualization to help design S fertilization strategies for cropping systems. A sound understanding of the S mineralization process and the factors controlling it is essential for predicting soil S supply and managing soils accordingly. However, despite the findings published some years ago (Tabatabai and Al-Khafaji 1980; Pirela and Tabatabai 1988) or more recently (e.g. Riffaldi et al. 2006), it is still difficult to predict S mineralization in soils. Because elements combine in soil organic matter, the C, N, and S cycles are interdependent (Parton et al., 1988). According to Tabatabai (1984), between 90% and 95% of soil S is stored in organic form linked to a carbon atom as C-S (carbon bonded sulphate) or C-O/N-S (ester sulphate). Organic S is mineralized to inorganic SO_4^{2-} by hydrolysis of sulphate esters catalysed by different sulphatases or by mineralization of C-bonded S due to microbiological activity (Castellano and Dick 1991).

The present study set out to assess the mineralization of S in French soils under controlled conditions, covering a range of soil characteristics and land uses. The purpose was to establish a mathematical equation for soil S mineralization with a view to designing a decision support

tool for S management in cropping systems. Based on the previously published litterature, we made the hypothesis that S mineralization is predominantly driven by OM degradation, and therefore closely related to C and N mineralization in the soil.

1.1. Materials and methods

1.1.1 Soils

Twenty-two soils from various parts of France were sampled in late winter. They were taken from the topsoil of experimental plots under a variety of land uses. The soils were kept moist and stored at 4°C until used for incubation. The samples had a wide range of chemical and physical properties and a variety of land uses: 14 soils had been under arable crops, 3 under pasture, 3 under green fallow and 2 under forest. Field-moist soil samples were air-dried, crushed to pass through a 5-mm mesh, sieved to homogenize and to remove large residue fragments, and analyzed for the main physico-chemical properties (Table 1). Texture was determined by the pipette method (NF ISO 11277*)* and pH was determined in water (soil-to-water ratio of 1:5), potentiometrically. Total N was determined by the modified Kjeldahl procedure after sulphuric acid digestion (NF ISO 11261). Organic C was determined by sulfochromic oxidation (NF ISO 14235) and total S by the dry combustion method (NF ISO 1578), using an elemental analyzer (CNS 2000, Leco). Other characteristics of the 22 soils are shown in Table 1. Clay content was expressed as clay content after decarbonatation.

Table 1 Some properties of the tested soils

Soil	Location			Texture	Land use	Clay	Silt	Sand	pH	$CaCO_3$	Organic C	Total N	Total S	Ratio			S-SO4 initial
N°	Name	Latitude	Longitude			g/kg	g/kg	g/kg		g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	C/N	C/S	N/S	mg/kg
1	Bruyères	49°52' N	3°67'E	Sandy calcareous silt	arable crops	52	165	326	8.6	396	10.2	1.06	0.26	9.6	39.2	4.1	5.2
2	Bruyères	49°52' N	3°67'E	Sandy calcareous silt	arable crops	54	157	252	8.7	469	11.2	1.14	0.22	9.8	50.9	5.2	8.9
3	Bruyères	49°52' N	3°67'E	Clayey calcareous silt	arable crops	234	218	281	8.3	184	23.9	2.50	0.27	9.6	88.5	9.3	27.6
4	Bruyères	49°52' N	3°67'E	Clayey sandy silt	arable crops	244	530	202	8.1	4	10.4	1.12	0.12	9.3	86.7	9.3	4.9
5	Bruyères	49°52' N	3°67'E	Clayey calcareous silt	arable crops	264	200	220	8.5	248	12.6	1.33	0.36	9.5	35.0	3.7	6.1
6	Bruyères	49°52' N	3°67'E	Sandy clayey silt	arable crops	140	526	266	7.7	2	9.9	1.05	0.19	9.4	52.1	5.5	4.5
7	Bruyères	49°52' N	3°67'E	Clayey sandy silt	arable crops	218	567	197	8.0	1	8.3	0.94	0.13	8.8	63.8	7.2	7.1
8	Bruyères	49°52' N	3°67'E	Clayey sandy silt	arable crops	173	592	161	6	0	14.5	1.48	0.16	9.8	90.6	9.3	9.4
9	Lorraine	48°43' N	7°5' E	Clayey silt	arable crops	142	133	691	6.7	0	7.9	0.81	0.34	9.8	23.2	2.4	6.7
10	Lusignan	46°26' N	0° 07'E	Loamy	arable crops	169	705	124	7.4	2	9.5	0.99	0.11	9.6	86.4	9.0	9.5
11	Mons	50°27' N	3°56'E	Loamy	arable crops	167	764	64	8.0	6	9.2	1.00	0.28	9.2	32.9	3.6	71.5
13	Haussimont	48°44′N	4°10'E	Chalky	arable crops	117	123	6	7.9	754	26.3	2.96	0.28	8.9	93.9	10.6	16.4
14	Haussimont	48°44′N	4°10'E	Chalky	arable crops	92	94	9	8.2	804	19.8	1.98	0.19	10.0	104.2	10.4	11.5
18	Bruyères	49°52' N	3°67'E	Clayey calcareous silt	arable crops	213	209	444	8.0	32	27.4	2.87	0.42	9.5	65.2	6.8	14.4
15	Bruyères	49°52' N	3°67'E	Clayey sandy silt	Pasture	96	492	351	6.8	0	13.5	1.42	0.16	9.5	84.4	8.9	9.7
16	Bruyères	49°52' N	3°67'E	Clayey sandy silt	Pasture	219	220	442	7.6	47	38.6	3.88	0.51	9.9	75.7	7.6	11.2
17	Lusignan	46°26' N	0° 07'E	Loamy	Pasture	146	724	127	7.3	3	8.6	0.86	0.08	10.0	107.5	10.75	6.7
12	Fagnières	48°57' N	4°19'E	Chalky	Green Fallow	98	167	13	8.3	722	15.2	1.57	0.20	9.7	76.0	7.9	18.5
19	Bruyères	49°52' N	3°67'E	Clayey calcareous silt	Green Fallow	206	130	344	8.3	259	22.5	2.45	0.30	9.2	75.0	8.2	13.0
20	Bruyères	49°52' N	3°67'E	Sandy	Green Fallow	99	114	763	7.4	1	8.0	0.73	0.11	11.0	72.7	6.6	1.0
21	Mailly	48°40′N	4°12'E	Chalky	Forest	140	79	9	8.1	771	32.7	2.93	0.26	11.2	125.8	11.3	13.5
22	Hesse Nancy	48°41' N	6°11' E	Loamy	Forest	149	683	167	4.7	0	23.3	1.68	0.14	13.9	166.4	12.0	10.8

1.1.2. Incubation

Each soil was moistened to 80% of its water-holding capacity (WHC) using a fine spray of deionized distilled water. Sub-samples of 55 g (over dry basis) were placed in beakers which were introduced into sealed 1-litre glass jars, and incubation was performed at 20±1°C for 175 days with 3 replicates per date and per soil. Seven destructive soil sampling dates for nitrogen and sulphur measurements were planned (days 0, 7, 28, 63, 98, 133 and 175). Carbon mineralization was measured at the same dates (except date 0), with CO_2 traps (20 ml 0.25 M NaOH) placed in the glass jars, and the NaOH solution was renewed every 14 days to prevent it from becoming saturated. Soil moisture was maintained throughout incubation by weighing the beakers periodically and adding deionized water whenever necessary.

1.1.3. Analytical measurements

The CO_2 trapped in the NaOH solutions was precipitated with 0.1M $BaCl_2$ solution and back titrated with 0.25 M HCl. The soil mineral N (NO_3^- and NH_4^+) was extracted with 1M KCl (30 min of agitation at 20°C, 1:4 soil/solution ratio, centrifuged for 20 min at 5,800*g) and filtered on a Durieux No.3 paper disc. The mineral N in the soil extracts was analyzed by continuous flow colorimetry (TRAACS 2000, Bran and Luebbe). The concentrations of NO_3^- and NO_2^- were determined as described by Kamphake et al. (1967) and NH_4^+ concentration as reported by Krom (1980). The soil mineral S (SO_4^{2-}) was determined on 25-g (o.d.b.) soil sub-samples shaken with 100 ml H_20 in an end-over-end shaker for 30 min (Walker and Doornenbal 1972). The suspension was then centrifuged (20 min at 5,800*g) and filtered on a Whatman nylon membrane (0.45µ). Soil extracts were analyzed for SO_4^{2-}-S by ionic chromatography (METROHM, 761 Compact IC).

1.1.4. Calculation and statistical analysis

To avoid extra mineralization during incubation caused by handling (drying, sieving and rewetting), the rates of S and N mineralization were calculated over the period of linear accumulation of mineral S and N in the soils, as a function of time. The rates were calculated and expressed in mg / kg soil / day at 20°C and 80% WHC. Soil CO_2 respiration was calculated for the same period.

STATISTICA 6.1 software, Statsoft, Inc., was used to analyze the initial data for organic C, total N and total S, and the cumulative data for C, N, and S mineralization. The data had normal distribution. We used the simple correlation method to establish any relationship between soil S mineralization rates and the different soil variables. A stepwise multiple regression was then performed to examine the relative importance of different variables in determining soil S mineralization rates. All soil variables were considered. The significance level for adding or retaining variables in the multiple regression model was $p<0.01$. We used two expressions of the relationships between rate of mineralized S and soil variables. B-coefficients, which are unstandardized, show the net effect in Y which is associated with one unit change in X - all in raw data values. Beta-coefficents, which are standardized, show the net effect in Y which is associated with one unit change in X without regard to how differently the variables are scaled - but the changes are in standard deviations. Because b-coeffficients deal with raw values, they were used to construct the prediction equation (in nanogramme S per kg dry soil per day). Because beta-coefficients are standardized, they were used to compare the "effects" of variables within equation.

1.2. Results

1.2.1 Characteristics of soils data set and relationships between total C, N and S

The soils studied were mainly from arable land (14 soils), the rest from pasture (3 soils), green fallow (3 soils) and forest (2 soils). The soils covered a wide range of textures: 7.9% (soil 21) to 76.4% (soil 11) for silt, 0.6% (soil 13) to 76.3% (soil 20) for sand, 5% (soil 1) to 26% (soil 5) for clay. Total $CaCO_3$ content ranged from 0% (soil 15) to 80.4% (soil 14). Most of the soils had a pH $\geq$ 7, with the exception of forest soil 22, which was acidic (pH=4.7). As expected, generally, the lowest stocks of organic C, total N and total S were found in the agricultural soils while the pasture, green fallow and forest soils had higher organic contents. The soil C/N ratios ranged from 8.8 (soil 7) to 13.9 (soil 22) and the C/S ratios from 23.2 (soil 9) to 166 (soil 22). On the whole the agricultural soils had lower C/N and C/S ratios, while the forest soils had the highest. Of the agricultural soils, the loamy clayey soils had lower C/S ratios than the chalky soils.

There was a linear relationship between soil organic C, total N and total S in the soils (Fig. 1a and 1b). Total N correlated linearly with soil organic C (r^2 = 0.95), while the relationship between total S and organic C was weaker but still significant (r^2= 0.36) ($p<0.01$). Excluding the forest soils with their high C/N ratio, the relationship between soil organic C and total N was almost 1:1 (r^2=0.99) over the whole range of values. The relationship between total S and organic C in the agricultural soils was far weaker (r^2=0.18) than in the other soils (r^2=0.74) (data not shown).

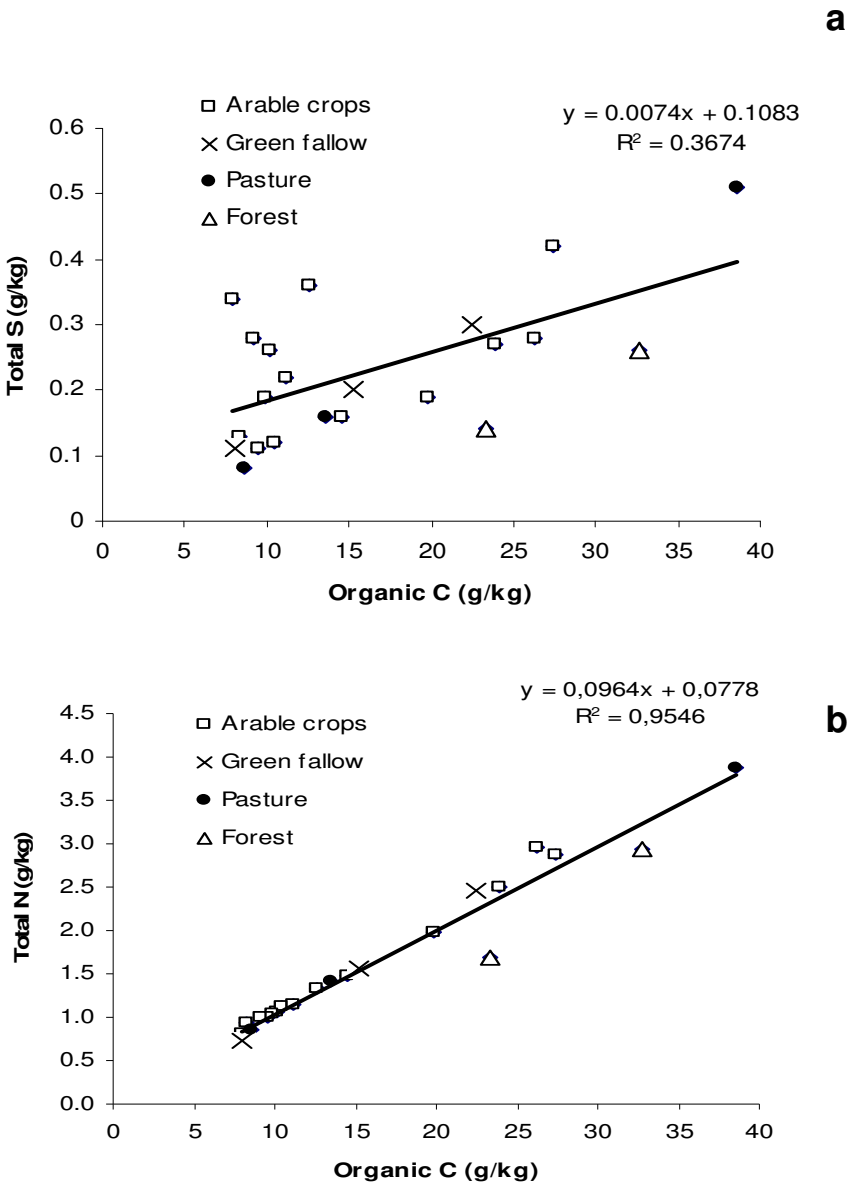


Figure 1 : Relationship between total S and organic C content of soils (1a) and total N and organic C content of soils (1b) of the 0-15 cm top layer for the 22 soils of the databasis.

1.2.2 Mineralization rates of C, N and S and relationships with soil characteristics

The rate of mineralization of CO_2- C during the incubation period varied considerably among the soils, ranging from 1.7 (soil 7) to 11.7 mg $kg^{-1}day^{-1}$ (soil 21) (Figure 2a). On average, the lowest C mineralization rates were observed with the agricultural soils, except for soil 13, while the highest rates were obtained with the forest and pasture soils. The rates of net N mineralization in the soils studied (Figure 2b) ranged from 0.08 (soil 5) to 0.58 mg $kg^{-1}day^{-1}$ (soil 13). The S mineralization rates (Figure 2c) ranged from 0.02 (soil 20) to 0.16 mg $kg^{-1}day^{-1}$ (soil 18).

Table 2 : Mean mineralization rates of C, N and S for the 22 soils incubated during 175 days at 20°C and 80% WHC.

soil n°	C mineralization rate mg/kg/day	N mineralization rate mg/kg/day	S mineralization rate mg/kg/day
1	2.11	0.22	0.05
2	2.19	0.23	0.07
3	3.57	0.22	0.11
4	1.94	0.16	0.05
5	2.53	0.08	0.05
6	2.16	0.22	0.06
7	1.67	0.12	0.05
8	2.27	0.22	0.10
9	2.76	0.21	0.08
10	2.04	0.17	0.07
11	1.97	0.13	0.09
12	2.30	0.20	0.04
13	7.69	0.58	0.14
14	4.57	0.25	0.11
15	4.47	0.25	0.10
16	7.58	0.38	0.15
17	2.81	0.19	0.08
18	4.56	0.31	0.16
19	4.82	0.22	0.09
20	2.90	0.15	0.02
21	11.69	0.28	0.14
22	4.89	0.47	0.05

The Cmin/Nmin, Cmin/Smin and Nmin/Smin ratios of the soils studied ranged from 9.6 (soil 1) to 42.0 (soil 21), from 22.5 (soil 8) to 117.5 (soil 20) and from 1.6 (soil 11) to 9.1 (soil 22) respectively (data not shown).

These C/N and C/S mineralization ratios show a much wider range of values that the corresponding soil ratios C/N, C/S and N/S, and did not show any significant relationship with them (data not shown). This suggests that the organic compartments being mineralized are of different kinds. The forest and green fallow soils had the highest Cmin/Smin ratios, due to the combination of high C and low S mineralization rates.

The relationships between C, N, S mineralization rates and organic C, total N and total S contents are shown in Fig. 2a, 2b, 2c and 2d. The C-CO_2 mineralization rates were positively related to soil organic C content (r^2 = 0.71), while N and S mineralization rates were less well (N) or poorly (S) explained by their respective total N and S soil contents. However, S mineralization rate was significantly correlated with total N. Excluding one forest soil with a high C content (soil 22) and one fallow crop soil (soil 12) (see Figure 2b), the relationship between mineralized N and total N was stronger than for C (r^2=0.58). The weakest relationship between S mineralization rate and total S was obtained with soils from arable land (r^2=0.20).

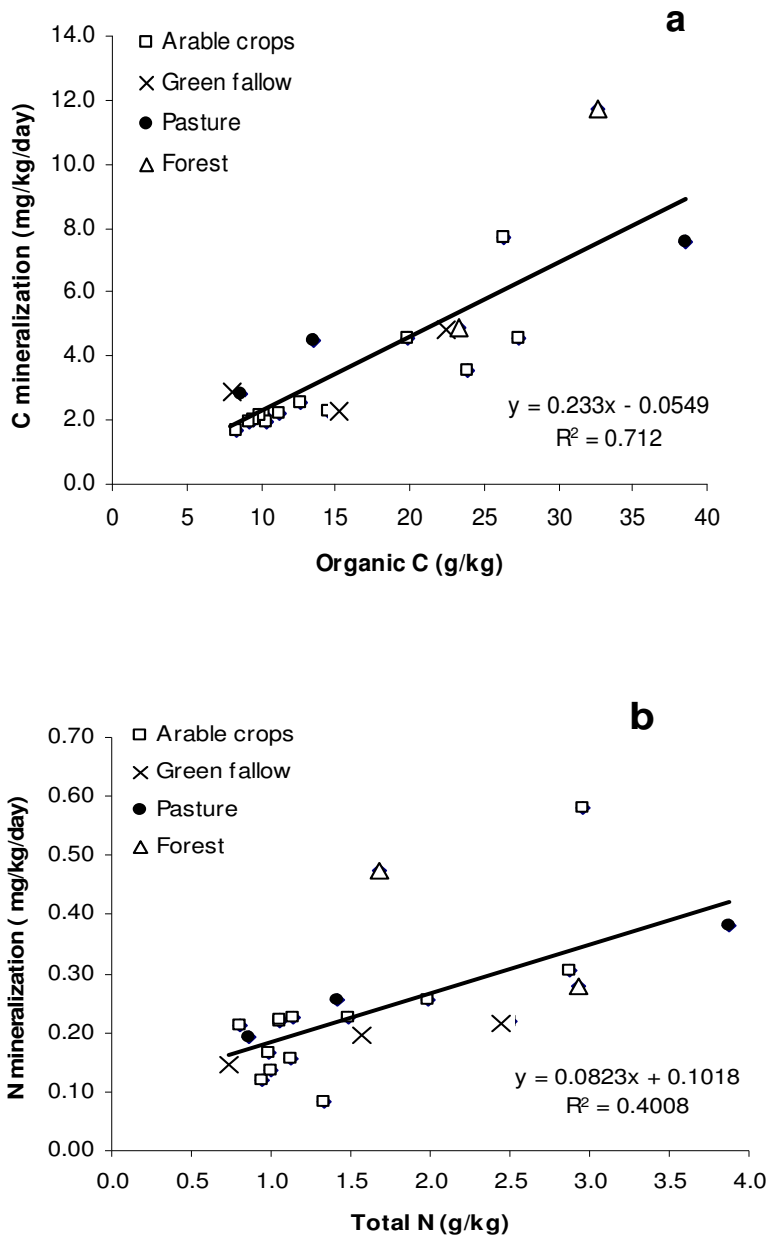


Figure 2 : Relationship between rates of mineralization of C and soil organic C content (2a), rate of N mineralization and total N content (2b). Values of C and N mineralization are the means of three replicates.

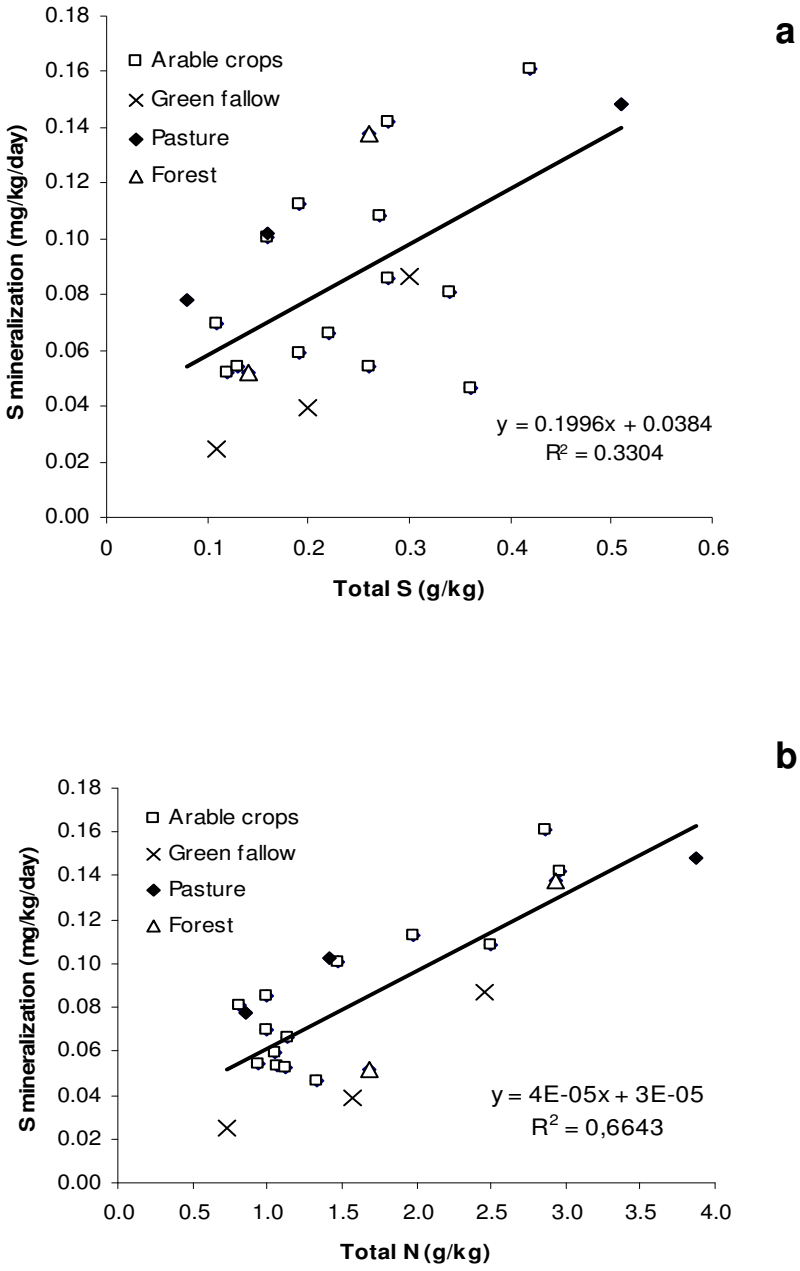


Figure 3 : Relationship rates of S mineralization and total S content (3a), rates of S mineralization and total N content (3b), for the 22 soils of the databasis. Values of S mineralization are the means of three replicates.

The relationships between the main soil properties and S mineralization rates were investigated (Table 3). Overall, the rates of C and N mineralization were significantly related to organic C and total N ($p<0.01$). C mineralization was negatively related to silt content and positively related to $CaCO_3$ content ($p<0.05$). The S mineralization rate had a significant correlation coefficient with organic C ($p<0.01$), total N ($p<0.01$) and to lesser extent with S content ($p<0.01$), but no significant relationship with any other soil property.

Table 3 Correlation coefficients(r) between C, N and S mineralization rate with soil properties

Measured variables	C mineralization rate	N mineralization rate	S mineralization rate
Clay (g/kg)	-	-	-
Silt (g/kg)	-0.41*	-	-
Sand (g/kg)	-	-	-
pH	-	-	-
$CaCO_3$ (g/kg)	0.47*	-	-
Organic C (g/kg)	0.84**	0.67**	0.77**
Total N (g/kg)	0.80**	0.63**	0.82**
Total S (g/kg)	-	-	0.57**
Organic C / Total N	-	-	-
Organic C / Total S	-	-	-
Total N / Total S	-	-	-
C mineralization Rate	1.00	0.63**	0.70**
N mineralization Rate	0.63**	1.00	0.55**
S mineralization Rate	0.70**	0.55**	1.00

*, ** significant at the 0.05, 0.01 probability levels, respectively;
- means not significant

1.2.3 Predictive equation for sulphur mineralization

With a view to predicting soil S mineralization from soil properties, after calculating relationships between S mineralization rate and soil properties, several combinations of soil properties were investigated as independent variables, using the stepwise procedure, and after elimination of soil 12 and soil 22 which were found as outlier data from the residues statistical analysis. Soil 22 corresponded to a forest soil with low pH (Table 1) while there is no obvious reason for outlier data for Soil 12. All easily available soil variables were checked.

The soil characteristics that appeared determinant for predicting S mineralization in the studied soils were organic C or total N content and pH. The same models were obtained with organic C and with total N because these two variables were significantly correlated (Table 2). Since C content is routinely determined in soil analysis, we chose C content as our variable. The multiple regression model, considering 20 soils (the entire database except soils 12 and 22), provides two equations.

The equation 1, using standardized beta-coefficients (ß), expresses the relative importance of each soil variable in the mineralization of S.

min S = 0.91*Corg - 0.26*pH + 0.22 * initial S-SO_4 - 0.13*clay , r^2 = 0.84, (1)

The equation 2, using unstandardized b-coefficients (B) is the predictive equation of S mineralization (in nanogramme per kg dry soil per day).

min S = 3.72*Corg – 14.58 pH + 0.57*initial S-SO_4 – 0.08*Clay + 146.6, r^2 = 0.84, (2)

The equation 2, applied to the 20 soils, predicted the measured mineralized S with a R^2=0.84 ($p<0.01$) .

1.3. Discussion

The rate of S mineralization in the soils ranged from 2.8 to 10.7% of total soil S, with an average 7.1% of total S for an incubation time of 168 days at 20°C and 80 % WFC, which, by using temperature and moisture functions, is equivalent approximately to 1.5 year in the field conditions of northen France. Taking incubation duration and temperature into account, this is within the range of values observed by various authors (Knights et al. 2001; Pirela and Tabatabai 1988; Riffaldi et al. 2006). There has long been a debate about how to quantify the actual mineralization of S, considering that the accumulation of SO_4^{-2} in soil would repress the activity of arylsulfatase, which is responsible for the mineralization of ester sulphates (Maynard et al. 1985). Therefore, it has been used the "open" incubation system based on periodic leaching of soil columns, which prevents sulfate accumulation in the soil, as opposed to the "closed" incubation system we used (e.g. Tabatabai and Al-Khafaji 1980; Verlinden 2002; Riffaldi et al. 2006). However, the rate of S mineralization we obtained during incubation is comparable to others: 5.5% (Riffaldi et al. 2006) or 7.8% (Tabatabai and Al-Khafaji 1980) reported in bibliography. Probably our assay of measuring S mineralization does not present any bias due to S accumulation. Pamidi et al. (2001), comparing the periodic leaching method with soil incubation in pots (planted or not), concluded that the open incubation system was not accurate in predicting plant S availability. In addition, our assay also allows the determination of C, N and S mineralisation simultaneously from the same soil batch under similar incubation conditions without the bias of leaching of organic N and C compounds that may affect the C and N dynamics. We chose soil H_20 extraction for measuring soil sulphate content to quantify the pool of sulphate available to plants. The soils studied did not include soils with high clay

content, so that S adsorption could be considered negligible. In order to investigate a larger range of soil types, it would be probably preferable to use KH_2P0_4 extractant.

Most reports have attempted to model the dynamics of S mineralization by fitting experimental values to a kinetic model with one soil or a small number of soils (e.g. Riffaldi et al. 2006; Zhou et al. 1999). Few studies have investigated the role of soil properties with the aim of finding a predictive equation for soil S mineralization. In this study we found significant relationships with organic C, total N , total S, and C and N mineralization rates during incubation and this agrees with the data of Riffaldi et al. (2006), but disagre with what reported by others (Eriksen et al. 1995; Pirela and Tabatabai 1988; Tabatabai and Al-khafaji 1980) who found no relationship between S mineralization and organic S in the soil. We found that the most significant ($p<0.01$) relationship was with soil organic C (or C mineralization), indicating that S mineralization is associated with C availability and cycling. Because C and N contents were linearly correlated in these soils (especially the arable soils), N content followed the same pattern. Eriksen et al. (1995) found a significant relationship between mineralized S and microbial activity (as determined by soil ATP content).

According to McGill and Cole (1981), the S mineralization occurs via biological and biochemical mineralization. Biological mineralization occurs when microorganisms use compounds containing C-bonded S as C sources and SO_4^{2-} is released as a byproduct of that process. Biochemical mineralization takes place when inorganic SO_4^{2-} levels are too low to meet microbial S requirements, *via* the stimulation of synthesis of arylsulphatase activity (Tabatabai and Dick 2002). Therefore our results suggest that C-bonded S was the main source of mineralizable organic S in the studied soils and potentially the best predictor of mineralized S in soils (Ghani et al. 1991; Zhou et al. 1999). Simultaneous monitoring of

C, N and S mineralization could be used to demonstrate more clearly the role of heterotrophic microbial activity in the release of sulfate from soil organic matter.

The stepwise regression showed that S mineralization rates could be well predicted by taking into account soil organic C (or organic N) content positively, and soil pH negatively. Tabatabai and Al-Khafji (1980) also found a significant negative relationship between S mineralization and pH. Our equations involve three soil parameters (organic C, soil pH, and clay content) that are commonly available from routine soil analyses and could be used to predict soil S supply. The clay content was the less significant predictor ($p=0.06$) but taking into account this variable improves the predictive quality of pH and S-SO_4 parameters. We relate this lack of significance of the clay variable to the range of soils investigated that lacks clayed soils. We also tried to take soil SO_4^{2-} content (initial and final) into account, on the hypothesis that it might affect S mineralization negatively owing to its repression on arylsulphatase activity. However, only the initial SO_4^{2-} soil content appeared to improve the prediction, and its effect on S mineralization was a positive one. Under the conditions investigated, the initial soil SO_4^{2-} content may indirectly reflect the ability of soil organic S to mineralize but probably the biochemical pathway of S mineralization was not important in our soils.

On the basis of the results obtained under these study conditions, it can be concluded that S mineralization rates are mainly related to organic C and N, and in different soils could be better predicted by soil C and N content than by soil S content directly. The predictive equation was mainly based on soils from temperate arable systems, even few soils from pasture and forest were included. The relationships and the accompanying predictive equation deserve further validation with independent data and a wider range of soil characteristics and of land use.

Chapitre 3

The effect of the availability of sulphur on C mineralization and S dynamics, in soil amended or not with a C substrate

1. Introduction

The influence of soil nutrient availability on plant residue decomposition rates has been a major challenge for long time, particularly for Nitrogen. The decomposition of plant residues was found to be accelerated in conditions of high N availability, when the residue had a high C/N ratio (e.g. Mary et al., 1996). This is understandable as the decomposing microbial community has a much lower C/N ratio than most plant litter so there is a high demand for N for microbial growth when C substrates are available. The N limitation effect was found to be dependent on the overall soil+residue N availability but also on the time scale of the processes (Fog, 1988). It was also found that a lack of N during decomposition both decreases the rate of residue decomposition and modifies the ratio of assimilated N to decomposed C (Recous et al., 1995, Henriksen and Breland, 1999).

In a situation of increasing sulphur limitation in soil-plant systems (Zhao et al., 2002, Scherer, 2001), the soil S supply to crops needs to be conceptualized and quantified. It is known to depend on mineralization of soil organic matter and S release by plant residues after incorporation into the soil. The impact of plant residues on S turnover in soils was investigated early on (Barrow, 1960), but mainly to predict net S mineralization as a function of the C/S ratio of the crop residue and only few authors investigated the possible sulphur limitation of C mineralization (Chapman, 1997, Stewart et al., 1966).

Making a parallel with Nitrogen, one may hypothesize that in situations of low soil S content, decomposition and microbial S demand may be limited by the availability of S itself. C-N-S relationships also need to be characterized when attempting to model S cycling in soil. Indeed there are many reports on the fate of S during decomposition of plant residues and on relationships between soil biomass and S immobilization (e.g. Wu et al., 1995), but only few quantitative relationships between C and S are available, as most of the published works did not aim at modeling processes.

The aims of the work presented in this chapter were to quantify the impact of soil S availability on crop residue decomposition and S immobilization. To do so, we performed two experiments.

(i) In the first experiment, we assessed the effect of S availability by varying the initial S-SO_4^{2-} content by adding sulphate (+0, +20, +50 mg S kg^{-1} soil) in a presence of a single rate of residue addition in the form of rapeseed straw. The specific objective was to determine the level at which S become limiting to decomposition and to quantify S immobilization at increasing levels of S available to decomposers. The rate of addition +20 mg S kg^{-1} was taken as a realistic S concentration in soil after S fertilization while the +50 addition rate was set much higher in order to examine microbial immobilization at a high rate of S availability.

(ii) In the second experiment, we assessed the effect of S availability by increasing the rate of C addition with a single level of soil S availability, without any addition of S-SO_4^{2-}. We added 2, 3 and 4 g C as wheat straw per kg dry soil, to show whether S would become limiting at higher rates of C addition. A treatment receiving glucose at 4 g C kg^{-1} soil was added, to avoid the residue-S source.

For both experiments the strategy was to prevent any N limitation that might affect the dynamics and scale of the processes studied. N was added in sufficient amounts to avoid N limitation of decomposition. This was particularly true for the second experiment with added glucose, where we added large amounts of N to all treatments. By using wheat straw in the second experiment we wanted to use a residue with higher C/N and C/S ratios decomposing in a nutrient-poor soil, so as to improve chances to observe an S limitation.

We do not think that the use of different substrates affects our conclusions as our general objective was to design relationships for predicting S availability in a wide range of agricultural conditions (see the modeling perspectives in Chapter 5).

2. Materials and methods

2.1. Soil

The soil was sampled in late winter. It was taken from the topsoil of experimental plots at INRA's experimental station in Mons, France (latitude 50°27′N, longitude 03°56′E). It was kept moist and stored at 4°C until used for incubation. Field-moist soil sample was crushed to pass through a 5-mm mesh, sieved to homogenize and remove large residue fragments, and analyzed for its main physico-chemical properties (Table 1). Texture was determined by the pipette method (NF ISO 11277*)* and pH was determined in water (soil-to-water ratio of 1:5), potentiometrically. Total nitrogen was determined by the modified Kjeldahl procedure after sulphuric acid digestion (NF ISO 11261). Organic carbon was determined by sulfochromic oxidation (NF ISO 14235) and total sulphur by the dry combustion method (NF ISO 1578), using an elemental analyzer (CNS 2000, Leco). The percentage of total $CaCO_3$, Clay, Silt and Sand, were 0.6%, 16.7%, 76.4% and 6.4% respectively. The pH of the soil sample was 8. Some characteristics of the tested soil are shown in Table 1.

Table 1: Particle-size distribution and chemical characteristics of the soil

Texture	Land use	Clay g/kg	Silt g/kg	Sand g/kg	pH H_2O	$CaCO_3$ g/kg	Organic C g/kg	Total N g/kg	Total S g/kg	C/N	C/S	N/S
Loamy	arable	167	764	64	8	6	9.2	1	0.28	9.2	32.9	3.6

2.2. Crop residues

Two types of plant residue were used for incubation: oilseed rape straw (*Brassica napus L.*) and wheat straw (*Triticum aestivum*). The wheat residue came from field experiments and the oilseed rape residue from plants grown under hydroponic conditions in a plant growth chamber (Trinsoutrot et al., 2000a). The residues were air-dried before use. A sub-sample of each residue type was further ground and analyzed for chemical and biochemical characteristics: (i) the soluble fraction was determined by hot water extraction(100°C) for 30 min followed by extraction with a neutral detergent (100°C) for 60 min (Linères and Djackovitch, 1993) (ii) the hemicellulose, cellulose and lignin fractions in the residue samples were then determined using the method described by Van Soest (1963); (iii) the nitrate and sulfate contents of the residues were determined in other samples by water extraction for 30 min at 20°C (material-to-extractant ratio 2/1000). The total C and N contents of the plant residues and fractions were measured using an elemental analyzer (NA 1500, Carlo Erba). The total S of the plant residues was determined by Inductively Coupled Plasma spectrometer (ICP) at USRAVE Bordeaux.

Table 2: Selected chemical and biochemical properties of plant residues. Fractions are expressed as % of residue dry matter.

Chemical fractions		Rapeseed straw	Wheat straw
C	%	43.0	42.7
N	%	1.40	0.46
S	%	0.136	0.088
C/N		30.0	92.8
C/S		316	486
$N\text{-}NO_3$	%	0.002	0.004
$S\text{-}SO_4$	%	0.065	0.023
Biochemical fractions			
Soluble	%	33.1	15.9
Hemicellulose	%	17.3	30.8
Cellulose	%	36.5	43.4
Lignin-like	%	13.1	9.9

The residues were chopped with scissors to an average size of 3 to 5 mm. They were homogenously mixed with wet soil to a concentration of 1.5 g C kg^{-1} soil for the rapeseed treatments in the first experiment. In the second experiment 2, 3 and 4 g C kg^{-1} soil of wheat straw and 4 g C kg^{-1} soil of glucose were added. Control treatments without C amendment were also set up.

2.3. Soil incubation

2.3.1. First experiment

The soil was moistened to 80% of its water-holding capacity (WHC) using a fine spray of deionized distilled water. Sub-samples of 35g (oven dry basis) were placed in beakers which were introduced into sealed 1-litre glass jars and incubated at 20±1°C for 175 days with 3 replicates per date and per treatment. Carbon mineralization was measured with CO_2 traps (20 ml 0.25 M NaOH) placed in the glass jars, and the NaOH solution was renewed periodically to prevent it from becoming saturated. Soil moisture was maintained throughout incubation by weighing the beakers periodically and adding deionized water whenever necessary. First experiment comprised seven treatments, three replicates for each treatment, and eight sampling times (0, 3, 6, 13, 27, 55, 88, and 175 days). Treatments consisted of the following combination:

- $Re_0 N_0 S_0$: Control soil
- $Re_0 N_1 S_0$: Soil + N_1 (added at 70 mg $N\text{-}N0_3$ / kg soil)
- $Re_0 N_1 S_1$: Soil + N_1 + S1 (added at 20 mg $S\text{-}SO_4$ / kg soil)
- $Re_0 N_1 S_2$: Soil + N_1 + S2 (added at 50 mg $S\text{-}SO_4$/kg soil)
- ReN_1S_0 : Soil + 1.5 g C/kg soil (Rapeseed straw) + N_1
- ReN_1S_1 : Soil + 1.5 g C/ kg soil (Rapeseed straw) + N_1 + S1
- ReN_1S_2 : Soil + 1.5 g C/ kg soil (Rapeseed straw) + N_1 + S2

For the three residue-amended treatments the initial ratio of added C to available soil sulphate was 443 (ReN_1S_0), 92 (ReN_1S_1) and 38 (ReN_1S_2).

At each sampling date, part of the soil from each container was removed for moisture determination after drying at 105°C for 24 h, another portion was used for analytical measurements. For CO_2 measurement, 12 sampling dates (3, 6, 13, 20, 27, 41, 55, 70, 90, 130,168, 175 days) were planned.

2.3.2. Second experiment

The soil (from the same initial soil batch) was prepared similarly to the experiment 1. This second experiment differed in the residue treatments applied and a shorter incubation period (56 days at 20±1°C). The shorter incubation period was chosen on the basis of earlier results that showed that for the most part the S and N fluxes and microbial turnover occur early. The soil received KNO_3 solution added so as to ensure that C decomposition was not limited by lack of N availability at the highest rate of C addition (4 g C kg^{-1} soil). Based on earlier results (Recous et al., 1995) the rate of addition was calculated to reach an initial mineral N content of 170 mg N kg^{-1} soil. The same amount of N was added for all C addition rates and for the control (0 N). No sulfate was added to the soil in any of the treatments. This experiment comprised five treatments, with three replicates for each treatment and six sampling times (0, 3, 6, 14, 28, 56 days). Treatments consisted of the following combination:

- Control: Control soil + N_1 (added at 150 mg N/kg soil)
- Wheat 2: Soil + 2g C as wheat straw / kg soil $+N_1$
- Wheat 3: Soil + 3g C as wheat straw /kg soil / $+N_1$
- Wheat 4: Soil + 4g C as wheat straw / kg soil $+N_1$
- Glu: Soil + 4g C as glucose / kg soil $+N_1$

For the four C-amended treatments the initial ratio of added C to available soil sulphate was 377 (wheat2), 469 (wheat3), 526 (wheat4) and 1176 (Glu).

At each sampling date, part of the soil from each container was removed for moisture determination after drying at 105°C for 24 h, another portion for analytical measurements. For CO_2 measurement, 8 sampling dates (3, 8, 15, 21, 29, 38, 46 and 56 days) were planned.

2.4. Analytical measurements

The CO_2 trapped in the NaOH solutions was precipitated with 0.1M $BaCl_2$ solution and back titrated with 0.25 M HCl. Carbon mineralization from residues was calculated as the difference between the samples with residues and the control samples. The soil mineral nitrogen (NO_3^- and NH_4^+) was extracted with 1M KCl (1:3 soil/solution ratio, 30 min of agitation at 20°C, centrifuged for 20 min at 5,800*g) and filtered on a Durieux No.3 paper disc. The mineral N in the soil extracts was analyzed by continuous flow colorimetry (TRAACS 2000, Bran and Luebbe). The concentrations of NO_3^- and NO_2^- were determined as described by Kamphake et al. (1967) and NH_4^+ concentration as reported by Krom (1980). The soil mineral sulphur (SO_4^{2-}) was determined on 10-g (o.d.b.) soil sub-samples shaken with 50 ml *0.016 M* KH_2PO_4 in an end-over-end shaker for 30 min (Walker and Doornenbal, 1972). The suspension was then centrifuged (20 min at 5,800*g) and filtered on a Whatman nylon membrane (0.45µ). Soil extracts were analyzed for SO_4^{2-}-S by ionic chromatography (METROHM, 761 Compact IC). The carbon content in the soil microbial biomass was determined by the fumigation-extraction method proposed by Vance et al. (1987), using the modification suggested by Chaussod et al. (1988), with extraction of the soluble carbon from samples, fumigated or not with chloroform, by 0.03 M K_2SO_4 (soil-to-

solution ratio 1/4, 30 min shaking at 20°). The extracts were then separated by centrifugation (20 min, 5800 g) and stored at -18°C. The soluble carbon concentration of the extracts was measured with an auto-analyzer (1010, O.I. analytical) using an oxidation method at 100°C in a persulfate medium, the CO_2 produced being measured by infrared spectrometry(Barcelona, 1984). Microbial biomass carbon was calculated from the difference between soluble C in fumigated and unfumigated soil, after division by a coefficient K_{EC}=0.38 (Vance et al., 1987)

ARS activity was determined in the soil sample with the method proposed by Tabatabai and Bremner (1970). Fresh soil (1 g) was incubated at 37 °C during 1 hour in a solution containing 4 ml of acetate buffer at 0.5 M (pH 5.8), 0.25 ml of toluene and 1 ml of 50 mM of potassium p-nitrophenyl sulfate. Then 1 ml of 0.5 M $CaCl_2$ and 4 ml of 0.5 M NaOH were added and the solutions filtered. The activity was calculated after colorimetric determination (absorbance at 400 nm) of the p-nitrophenol released. ARS activity was expressed in µg p-nitrophenol g^{-1} dry soil h^{-1}.

2.5. Calculation and statistical analysis

One way or two-way analysis of variance (ANOVA) was performed using STATISTICA 6.1 software, Statsoft, Inc., on all the variables, with treatments and time as independent and interactive sources of variance. When significant F-tests were obtained, means separation was achieved using a Tukey's test at the 0.05-probability level. All the measured variables were evaluated for normality based on the visual observation of residual and normal probability plots obtained using STATISTICA 6.1.

3. Results

3.1. First experiment

3.1.1. Carbon mineralization

The rate of mineralization of CO_2-C during the incubation period (Figure 1a) varied considerably among the treatments and times over the 0-175-day period. The CO_2-C mineralization rate for the residue-amended treatments peaked by day 3 and then decreased until day 55, stabilizing thereafter at a consistently higher level than in the non-amended soil. There was no significant effect of added S or added N on the rates of C mineralization whatever the C treatment (control or residue-amended soil) or the incubation time.

Therefore the cumulative amount of mineralized C in the control was not significantly affected by added mineral N or S during incubation: more C-CO_2 evolved from treatment $Re_0N_1S_0$ but the difference was not statistically significant (Fig. 1b). Figure 1C expresses the mineralization as a percentage of added C. The cumulative mineralization after 175 days reached 53.5±11.7 % (ReN_1S_0), 62.7± 6.1 % (ReN_1S_1), 59.4± 2.3 % (ReN_1S_2), with no significant differences between amounts of added S. The lower mineralization observed with ReN_1S_0 was due to higher mineralization of the corresponding control, but was not significant.

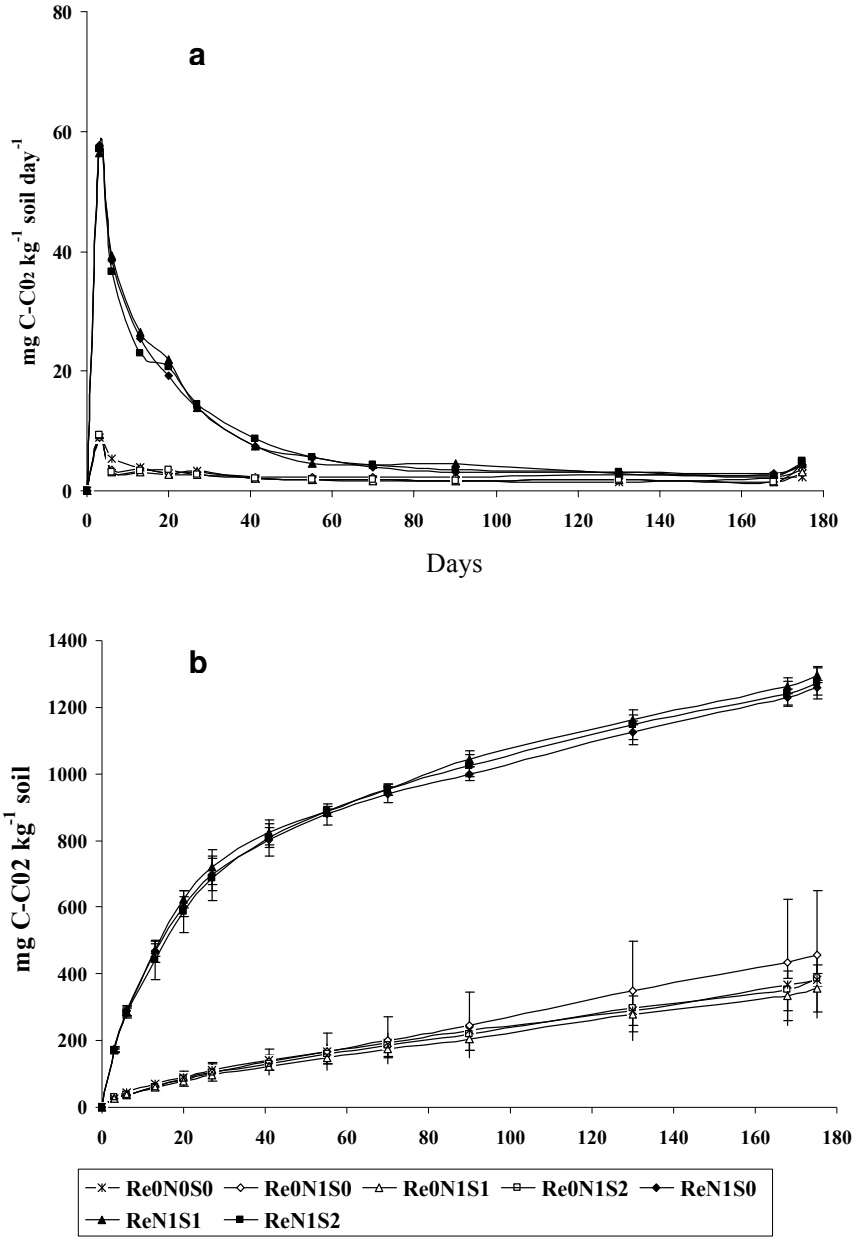


Figure 1: Rates of C mineralization (1a) and cumulative mineralized C (1b) in non-amended soil Re_0N_0 S_0 (∗), $Re_0N_1S_0$ (◇), $Re_0N_1S_1$ (Δ), $Re_0N_1S_2$ (□) and soil amended with rapeseed straw: ReN_1S_0 (♦), ReN_1S_1 (▲), ReN_1S_2 (■). The samples were incubated for 175 days at 20°C. Values are the mean of 3 replicates. Bars are the standard errors of the means.

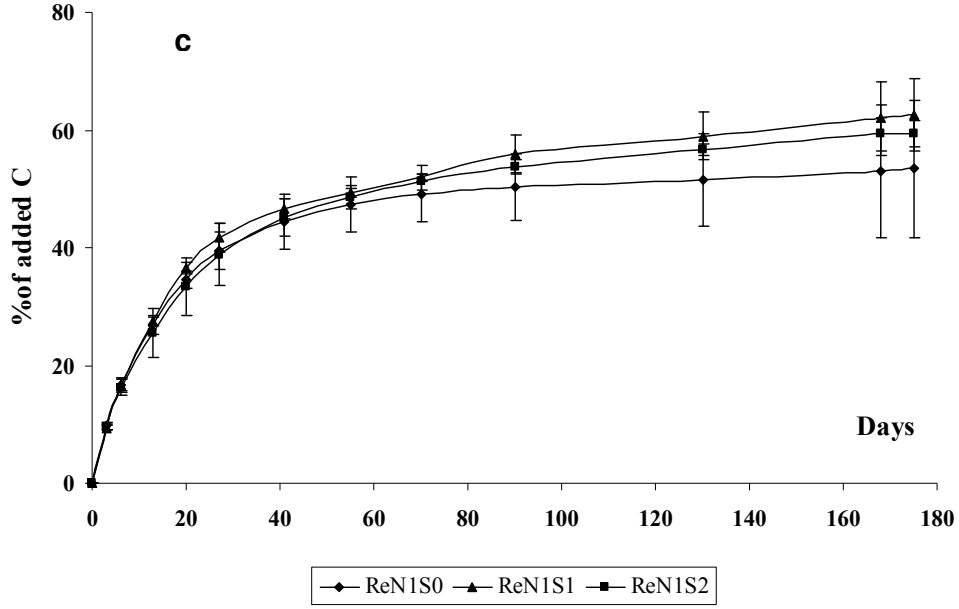


Figure 1C: Cumulative amounts of mineralized residue-C (% of added C) in soil amended with rapeseed straw, ReN_1S_0 (♦), ReN_1S_1 (▲), ReN_1S_2 (■). The incubation was run for 175 days at 20°C. Values are the mean of 3 replicates. Bars are the standard errors of the means.

3.1.2. Soil N dynamics

There was a net accumulation of inorganic N in the control soil ($Re_0N_0S_0$) during incubation, with a mean rate of 0.15 mg N mineralized kg^{-1}soil day^{-1} (Figure 2a). The kinetics of N in soil receiving added N ($Re_0N_1S_0$, $Re_0N_1S_1$ and $Re_0N_1S_2$) showed variations during incubation but no significant differences as a function of the rate of S addition (S_0, S_1, S_2). We observed a net decrease during the incubation which is not expected for soils non amended with C, and this might be due to analytical problems. Over the incubation period, net mineralization was low but this was due to the observed decrease in N content. Residue-amended treatments showed an initial rapid net immobilization of N which calculated by their differences with time 0 and with their respective controls, reached -33 mg N kg^{-1}soil by day 27, on average, for the 3 C-amended treatments. Thereafter the

amount of N increased slowly as a result of increasing mineralization. Statistical analysis showed that immobilization of N was not dependent on the S levels.

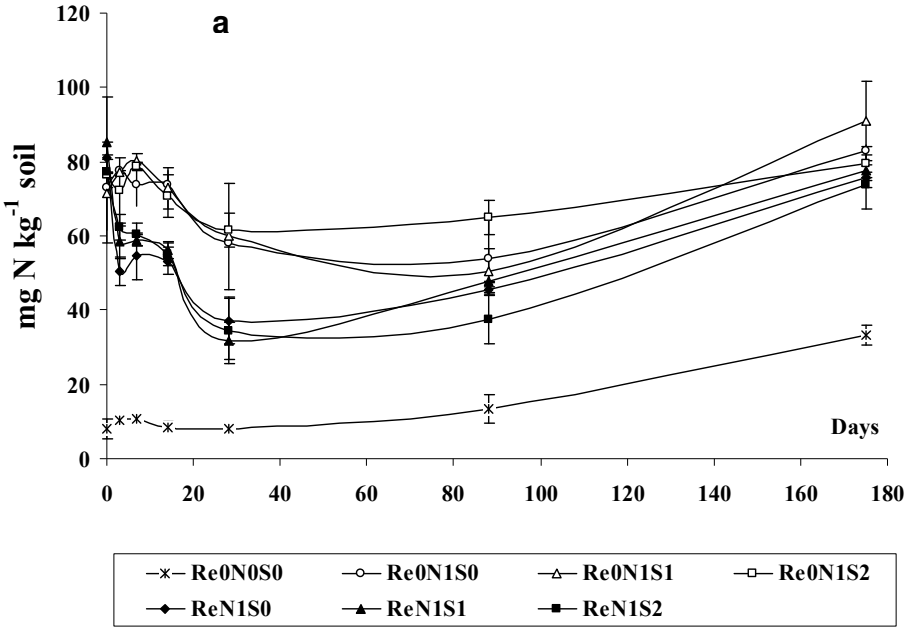


Figure 2a: Evolution of mineral N (ammonium + nitrate) in non-amended soil Re_0 N_0 S_0 (∗), Re_0 N_1S_0 (◇), $Re_0N_1S_1$ (Δ), $Re_0N_1S_2$ (□) and soil amended with rapeseed straw: ReN_1S_0 (♦), ReN_1S_1 (▲), ReN_1S_2 (■).The samples were incubated for 175 days at 20°C. Values are the mean of 3 replicates. Bars are the standard errors of the means.

3.1.3. S mineralization and immobilization

At time 0, for the three mineral S levels, phosphate extractable S was slightly higher in residue-amended treatments than in non-amended treatments. In the three S_0 treatments a constant increase in the amount of extractable mineral S was observed during incubation (Figure 3a). The average rate of S mineralization in these treatments was 0.014-0.016 mg S kg^{-1}soil day^{-1} with no significant differences between C-amended and non-amended treatments. This value is higher than the rate of S mineralization obtained in another incubation with the same soil in experiment 1 (soil 11 in chapter 2). Sulphate dynamics at

S_1 and S_2 levels showed similar patterns with increasing and decreasing S-$S0_4$ soil content over the 0-55-day period, followed by a slight decrease until day 175. There was no significant difference between C amended and non amended treatments at each S level. The effect of residue decomposition on S mineralization (Figure 3b), calculated as the difference with initial content and control treatment content, showed a slight negative mineralization, i.e. a slight net immobilization, in the range 0 to 5 mg immobilized S kg^{-1} soil. However, the determination was inaccurate due a calculation involving two successive subtractions between values where there is little difference between treatments and over time.

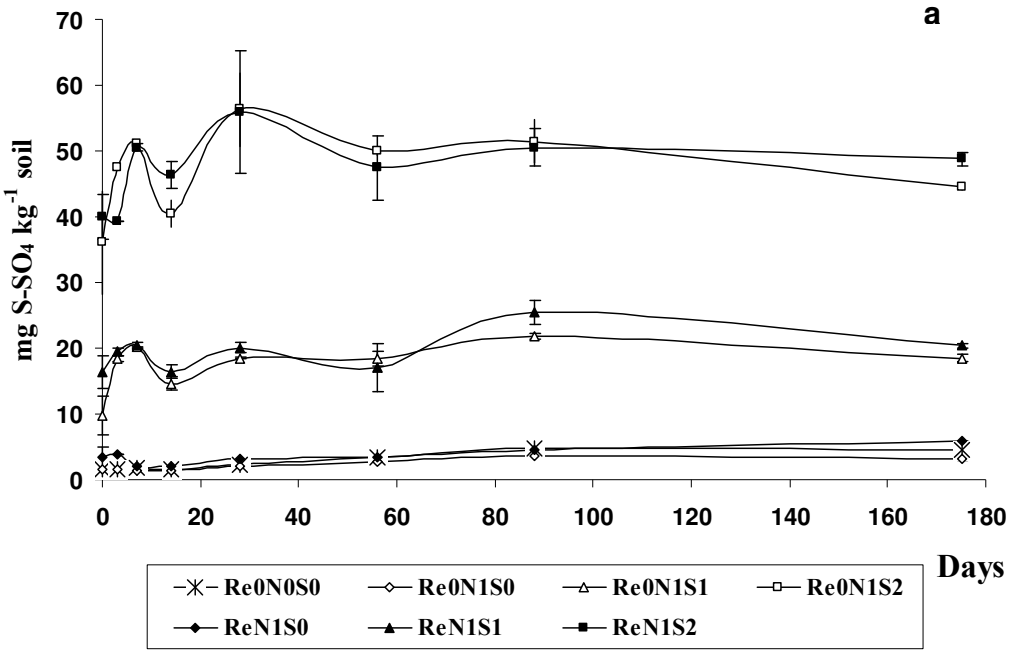


Figure 3a: Evolution of sulphate content in non-amended soil $Re_0\ N_0\ S_0$ (∗), $Re_0\ N_1S_0$ (◇), $Re_0N_1S_1$ (Δ), $Re_0N_1S_2$ (□) and soil amended with rapeseed straw: ReN_1S_0 (♦), ReN_1S_1 (▲), ReN_1S_2 (■).The samples were incubated for 175 days at 20°C. Values are the mean of 3 replicates. Bars are the standard errors of the means.

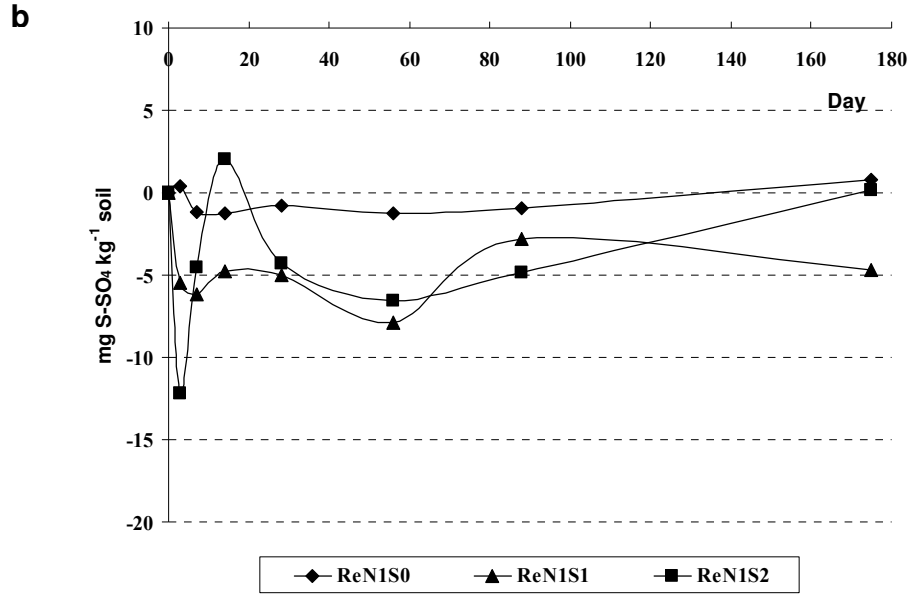


Figure 3b: Net effect of residue decomposition on S mineralization. The value for each treatment at each sampling date was calculated after subtracting from the mineral S content, at each date, the corresponding values of the control and the soil mineral S content measured at day 0. The samples were incubated for 175 days at 20°C.

.

3.1.4. Changes in microbial biomass and arylsulphatase activity

Figure 4a shows the kinetics of SMBC (soil microbial biomass carbon) in soils for C-amended and control treatments. Initial microbial-C was 200 mg C kg^{-1}soil and remained almost constant (no significant differences) throughout the incubation for the four treatments without added residue (mean value of 189±6 mg C kg^{-1}soil at day 175), irrespective of their N or S addition rates. SMBC increased markedly following the addition of residue and peaked in the amended soils at day 7 then decreased until day 56 and stabilized thereafter at a consistently higher level than either their initial levels or the residue-free treatments. The ReN_1S_0 treatment showed a significantly higher SMBC increase which persisted until day 88, except at day 56.

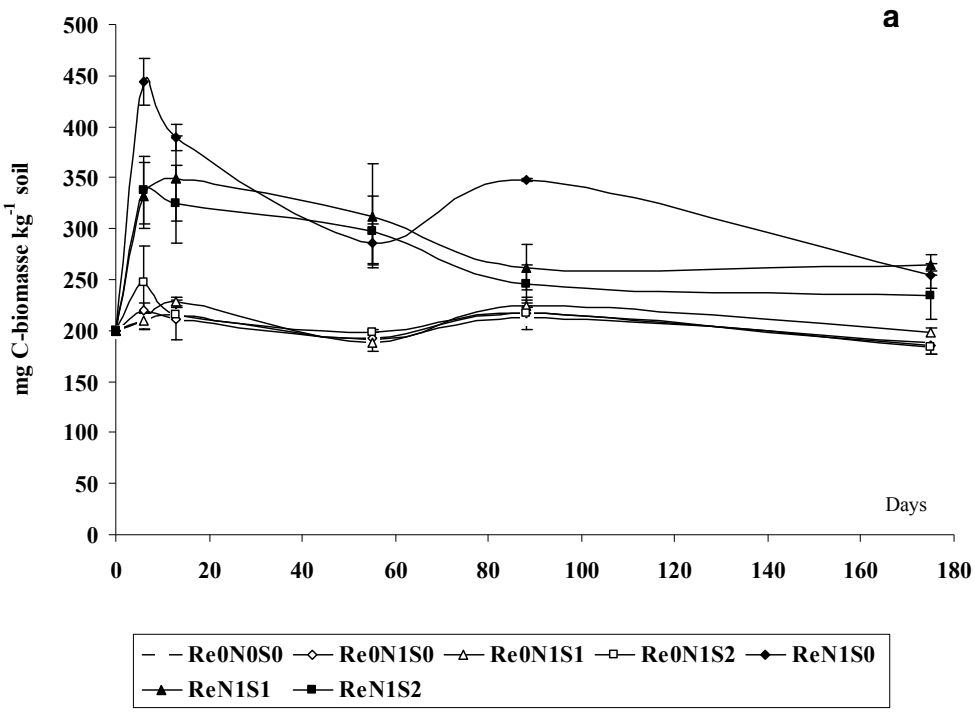


Figure 4a Microbial biomass in non-amended soil $Re_0N_0\ S_0$ (∗), $Re_0N_1S_0$ (◇), $Re_0N_1S_1$ (Δ), $Re_0N_1S_2$ (□) and soil amended with rapeseed straw: ReN_1S_0 (♦), ReN_1S_1 (▲), ReN_1S_2 (■).The samples were incubated during 175 days at 20°C. Values are the mean of 3 replicates. Bars are the standard errors of the means.

The ARS activity showed large fluctuations over time (Figure 4b), but generally speaking, all treatments followed the same trend. In residue-added treatments, higher ARS activity was observed in late incubation. The two-way ANOVA showed a significant effect of added Residue*S level factor ($p<0.05$) at day 28. Significant effects of added Residue ($p<0.05$) and Residue*S level ($p<0.01$) factors were observed at day 56, when ARS activity was $ReN_1S_0 < ReN_1S_1 < ReN_1S_2$. At day 96, we observed a significant effect of added Residue ($p<0.01$) was observed. At day 175 there was no significant difference anymore between treatments.

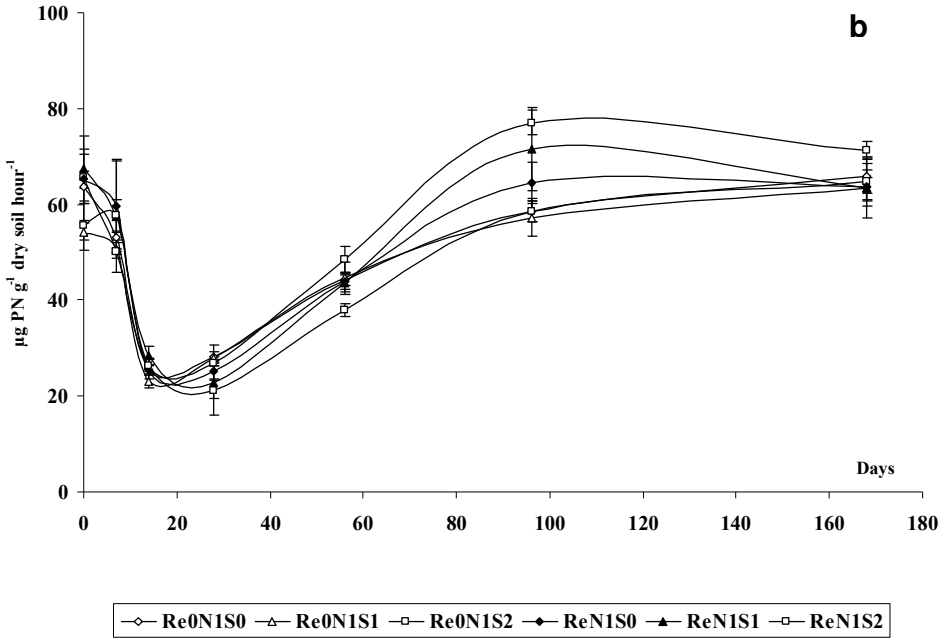


Figure 4b: ARS activity in non-amended soil ($Re_0 N_0 S_0$ (∗), $Re_0 N_1 S_0$ (◇), $Re_0 N_1 S_1$ (Δ), $Re_0 N_1 S_2$ (□) and soil amended with rapeseed straw ($ReN_1 S_0$ (♦), $ReN_1 S_1$ (▲), $ReN_1 S_2$ (■).The samples were incubated for 175 days at 20°C. Values are the mean of 3 replicates. Bars are the standard errors of the means.

3.2. Second experiment

3.2.1. Carbon mineralization

The mineralization rate of C was fairly constant at 4.9 mg C $kg^{-1}day^{-1}$ for the control treatment throughout the 0-56-day period (Fig. 5a and 5b). Glucose mineralization was very rapid, with a peak at day 3 and most of the C-CO2 mineralization occurring during the first 14 days. The CO_2-C mineralization for the wheat treatments peaked by day 3 and then decreased slowly but remained higher than for the control soil. Cumulative C mineralization (Fig. 5c) was higher with higher rates of wheat residue addition. At similar

rate of C addition (4 g C kg^{-1} soil), glucose showed totally different pattern of mineralization, depending on the biochemical characteristics.

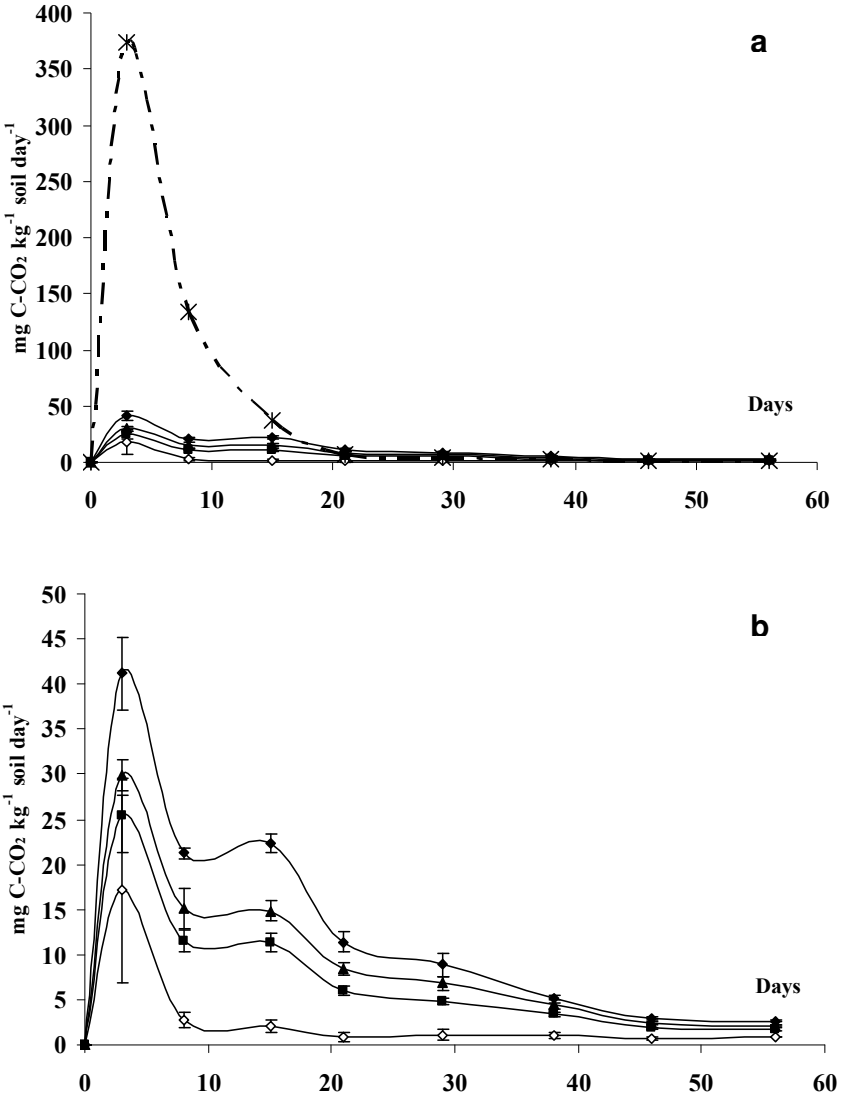


Figure 5: Rates of mineralization of C in non-amended control soil (◇), soil amended with wheat straw at 2 (■), 3 (▲), or 4 (♦) g C kg^{-1} soil and soil amended with glucose at 4 g C kg^{-1} soil (∗) (5a). The figure 5b excludes the Glu treatment. .The samples were incubated for 56 days at 20°C. Values are the mean of 3 replicates. Bars are the standard errors of the means.

When expressed as a function of added C (Fig. 5d), mineralization of wheat-C was exactly proportional to the rate of C addition, and the cumulative mineralization at day 56 was therefore not significantly different between treatments: 31.8 ± 3 % of added C (Wheat1), 30.9± 3.13 % (Wheat2), 33± 0.82 % (Wheat3) at day 56. Conversely, the glucose treatment showed a high cumulative mineralization at day 56, of 74.6 ± 1.11 % of added C (Glu). The slope of the curve suggests that almost all the C-glucose added was mineralized by that time, as the rate of C mineralization became very low after 14 days.

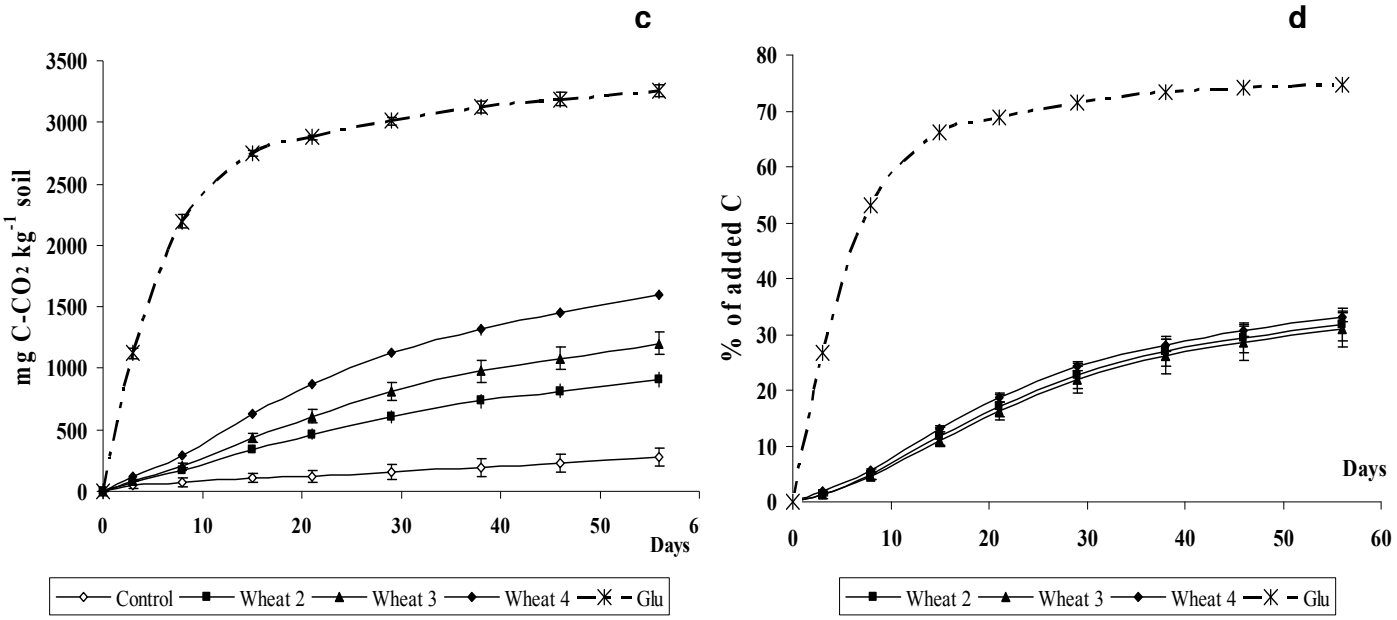
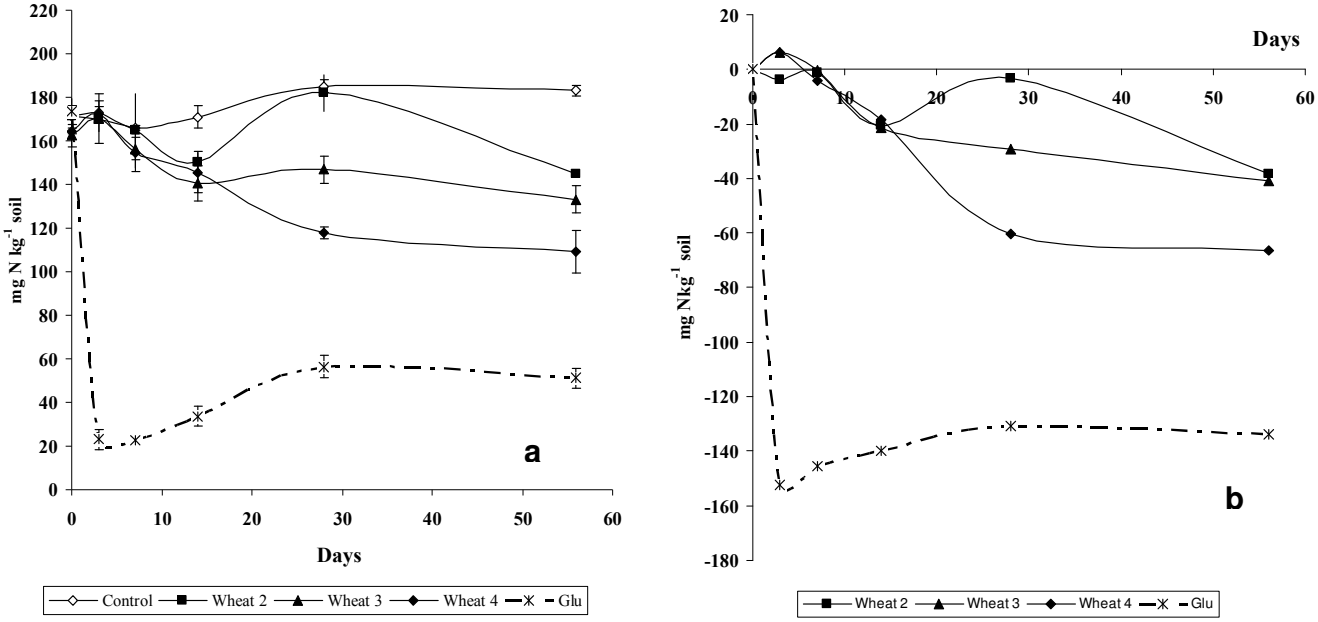


Figure 5cd: Cumulative mineralization of C expressed in mg C kg-1 soil (5c) and in percentage of added residue-C in soils amended with wheat straw at 2 (■), 3 (▲), or 4 (♦) g C kg^{-1} soil, and soil amended with glucose at 4 g C kg^{-1} soil (∗).

3.2.2 N mineralization and immobilization

During the first 6 days of incubation, a very sharp decrease in soil mineral N content was observed in the Glu treatment, equivalent to a net decrease of about 150 mg N kg^{-1} soil; mineral N content then increased up to day 28 due to remineralization, then remained almost stable until day 56 (Figures 6a and 6b). In treatments amended with wheat residue, the significant effect of added residue on soil mineral N, compared to the control, was observed by day 14. A significant effect of the rate of wheat residue addition on N mineral was observed by days 28 and 56, with wheat2 > wheat3 > wheat4. The increase observed for wheat2 at day 28 at a level similar to control treatment is unexpected and not explained by known C-N processes. It could be due to analytical problems.



Figures 6: Soil mineral N content (6a) and net N immobilization (6b) in non-amended control soil (◇), soil amended with wheat straw at 2 (■), 3 (▲), or 4 (♦) g C kg^{-1} soil, and soil amended with glucose at 4 g C kg^{-1} soil (∗). The samples were incubated for 56 days at 20°C. Values are the mean of 3 replicates. Bars are the standard errors of the means.

3.2.3 S mineralization and immobilization

For the wheat treatments, a slight increase in extractable sulphate content was measured at time 0 (Fig. 7a), which corresponded to the water-extractable sulphate measured in plant residues (Table 2). No such increase was observed with the Glu treatment, which was similar to the control[1]. For the three wheat treatments, small variations of mineral S (in absolute amounts) were observed with slight increases followed by slight decreases. The differences with the control soil became evident at day 14, although the absolute differences were still low. Conversely, mineral S content in the Glu treatment was always lower than for the wheat and control treatments, reaching almost 0 at day 28. However, no significant difference was observed between Glu and the wheat treatments at the end of incubation.

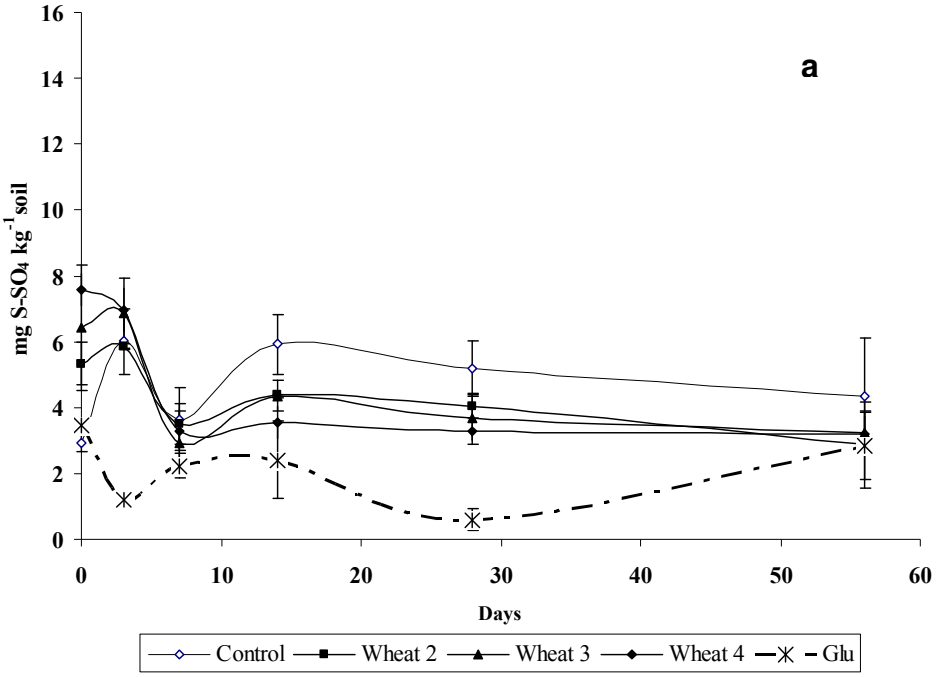


Figure 7a: Sulfate content in control (◇), soil amended with wheat [2 (■), 3 (▲), 4 (♦) g C kg^{-1} soil] and with glucose added at 4 g C kg^{-1} soil [Glu5 (∗)].The samples were incubated for 56 days at 20°C. Values are the mean of 3 replicates. Bars are the standard errors of the means.

[1] Note that the scale of the Y axis is small compared to figure 3 of the first experiment and figure 6 for N dynamics.

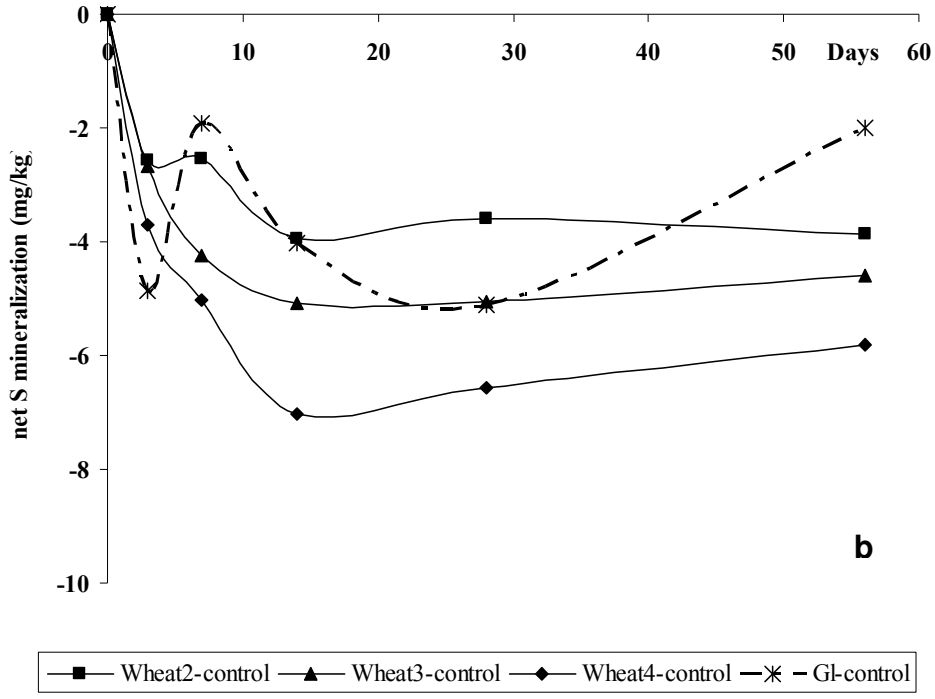


Figure 7b: Net effect of added residue and glucose in control (◇), soil amended with wheat straw at 2 (■), 3 (▲), or 4 (♦) g C kg^{-1} soil, and soil amended with glucose at 4 g C kg^{-1} soil (∗). The samples were incubated for 56 days at 20°C. Values are the mean of 3 replicates.

A net decrease in mineral S occurred in all wheat treatments until day 14 with net immobilization being -4 to -7 mg S kg^{-1} soil, with wheat4< wheat 3 < wheat2 according to the rate of C addition (Figure 7b). After day 14 the net amount of immobilized S remained almost constant or decreased slightly. The immobilization of S in the Glu treatment was in the same range of values as the wheat treatments, but varied rapidly over time, with fast decrease and increase in S. However, these rapid changes were all very small in terms of absolute values.

3.2.4 Changes in microbial biomass and arylsulphatase activity

Figure 8 shows the kinetics of SMBC (soil microbial biomass carbon) for each treatment and the control soils. Microbial-C was 123 mg C kg-1 soil in all the treatments on day 0. Microbial-C increased very rapidly following the addition of glucose and peaked by day 3 when SMBC reached 10 times its initial value. A very rapid decrease then was observed with the Glu treatment, although the level of SMBC remained significantly higher than the wheat treatments and the control until the end of the experiment. The wheat treatments showed a much slower increase in SMBC, differing significantly from the control from day 7 onwards. There was no significant difference between wheat2, wheat3 and wheat4, except at day 28 when wheat4 was significantly different from wheat2.

ARS activity (Figure 9) in the Glu treatment increased rapidly by day 3 then decreased sharply until day 14, and continued to decrease gradually until the end of the experiment. However, it remained significantly higher than in the wheat-amended treatments and the control throughout the incubation period. A slight increase in ARS activity was observed in the wheat-amended treatments and the control by day 7. A slight difference between wheat treatments appeared at day 28, but only wheat4 had significant higher ARS activity than wheat2 and wheat3 at the end of incubation.

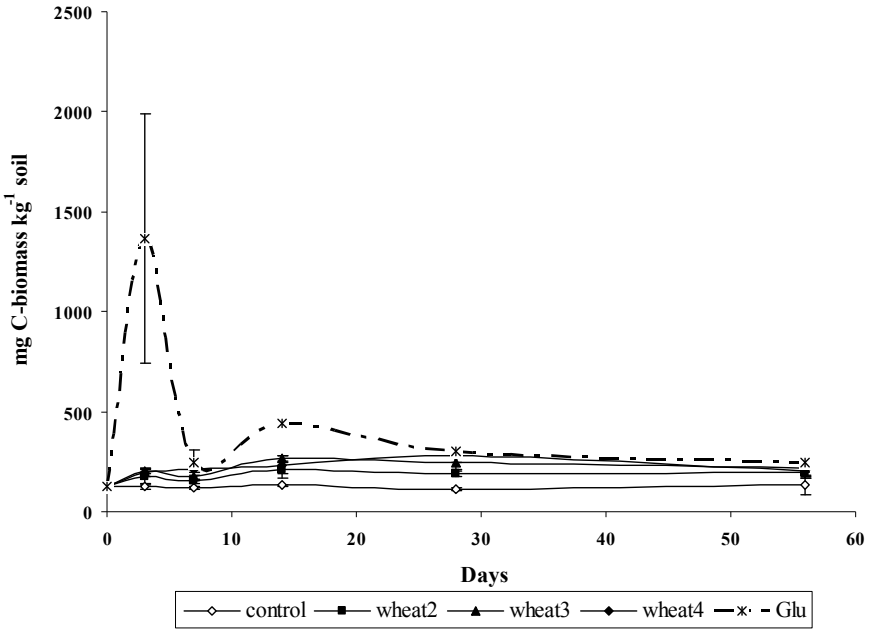


Figure 8: Microbial biomass (SMBC) in non-amended control soil (◇), soil amended with wheat straw at 2 (■), 3 (▲), or 4 (♦) g C kg^{-1} soil and soil amended with glucose at 4 g C kg^{-1} soil (∗).Values are the mean of 3 replicates. Bars are the standard errors of the means.

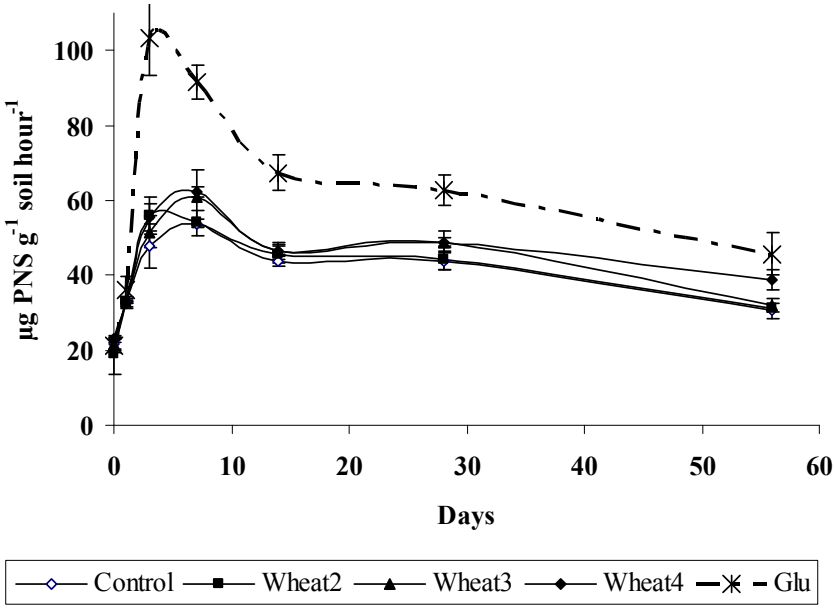


Figure 9: ARS activity in non-amended control soil (◇), soil amended with wheat straw at 2 (■), 3 (▲), or 4 (♦) g C kg^{-1} soil and soil amended with glucose at 4 g C kg^{-1} soil (∗). Values are the mean of 3 replicates. Bars are the standard errors of the means.

4. Discussion

4.1. Effect of S addition on C decomposition and S dynamics

The effect of S availability on C dynamics was investigated by either varying the initial soil mineral S content (experiment 1) or by varying the initial level of C addition (experiment 2), i.e. the microbial S demand for decomposition.

With the first experiment, we did not observe an increase in decomposition in response to the addition of sulphate, nor any effect on C mineralization kinetics due to the added rapeseed straw (ReN_1S_0, ReN_1S_1 and ReN_1S_2), nor on the C mineralization from soil organic matter ($Re_0N_1S_0$, $Re_0N_1S_1$ and $Re_0N_1S_2$). This means that the basal soil content and soil S mineralization provided microorganisms with enough S to sustain their activity. The addition of N did not modify respiration in the control soil ($Re_0N_0S_0$ vs. $Re_0N_1S_0$). In the case of the straw-amended soils, we assume that the rate of N addition (calculated from earlier experiments, Recous et al., 1995) was sufficient to meet microbial N needs. This is supported by our soil N measurements, which showed no exhaustion of the mineral N pool over time. The kinetics of C mineralization must therefore have been driven only by the biochemical nature of the C substrate (for further discussion on the role of plant residue quality, see Chapter 4). We did not observe any effect of S addition on the dynamics of soil N and on the net N immobilization.

There was very little change in soil mineral S as a function of C addition or time, confirming the low rates of soil S mineralization observed previously in agricultural soils (see Chapter 2), and also confirming data from the literature showing low changes in S content following addition of rape or wheat straw (Chapman, 1997, Wu et al., 1995). We observed that the incorporation and decomposition of rapeseed straw did not significantly change the mineral S content of soil, except for a slight systematic net increase with rape straw amended

treatments, probably due to a small net release of residue S. Unlike N dynamics, soil S dynamics present successive increases and decreases that suggest simultaneous release of residue S and S immobilization. By comparison with their respective controls, we calculate that some small net immobilization of S occurred, in the range 0 to -5 mg S kg^{-1} soil. However, this calculation involved two subtractions of S content values (with the control and with time 0); it is therefore inaccurate and not statistically significant. These low or almost nil net S immobilization values are in agreement with Wu et al. (1993, 1995) and Chapman et al. (1997). This implies that microbial S demand and S turnover rate are low and lead to few changes in net S accumulation over time. Nziguheba et al. (2006), Eriksen (1995) estimated gross immobilization by using ^{35}S dilution techniques. They too observed that the gross mineralization and immobilization fluxes were slight, and that for residues with a high C/S the net balance of the addition of residue was almost nil.

Making the parallel with N cycling, our initial hypothesis was that a higher availability of soil S might increase its use by soil microbes and therefore increase its immobilization. We observed an S immobilization of 0, -5 and -12 mg S kg^{-1} soil for ReN_1S_0, ReN_1S_1 and ReN_1S_2 respectively, at day 3 and a higher biomass C for ReN_1S_2, but this effect was very transient, and it is not possible to conclude that S immobilization is enhanced with increasing availability of soil mineral S. Very few papers have investigated this question (Stewart et al., 1966; Ghani et al., 1992; Chapman, 1997) and particularly almost none have looked simultaneously at C, N and S. For example, examining the paper by Chapman (1997) on S dynamics after addition of barley straw, we found that their experimental conditions were limiting for N.

4.2. Levels of C addition and microbial demand

The second approach consisted in varying the rate of addition of C substrate. We expected to create an S limitation for the decomposers at the high C addition rate of 4 mg C kg^{-1} soil as wheat or glucose. With increasing addition of wheat straw, we observed no effect on the rate of C mineralization. This suggests that S availability was still not limited at the highest amendment rate. It was suggested previously that a ratio *added C to available S* of 200-300 for plant residue or cellulose (Stewart 1966) or 600-900 for glucose (Ghani et al., 1993) would be critical for decomposition. In our experimental conditions the ratio ranged from 38 (rape straw treatment with 50 mg S-SO_4 added) to 526 (4 g C-wheat added without S added) for plant residue and we did not observe a S limitation. There was a close relationship between the amount of wheat C added, the rate of C mineralization and the dynamics of soil N and soil S. The immobilization ratio for N was 44-59 mg N immobilized per g C mineralized. The immobilization of S was higher with higher rates of C addition (Table 3), with a factor of 10 between immobilized N and immobilized S at day 56, suggesting an N:S ratio of 10 for the microbial biomass (and its products).

Table 3: Net mineralization of C, N and S in soil at day 56, after addition of 2 (wheat 2), 3 (wheat 3) and 4 g C kg^{-1} soil (wheat 4) as wheat straw. C, N and S values are calculated by difference with the control treatment (no straw added), and for N and S also by difference with initial soil content at day 0.

Treatment	Net mineralized $C0_2$ (mg C kg^{-1} soil)	Net mineralized N (mg N kg^{-1} soil)	Net mineralized S (mg S kg^{-1} soil)
Wheat 2	635	-38	- 3.8
Wheat 3	926	-41	-4.6
Wheat 4	1321	-66	-5.8

Although the dynamics of microbial C and arylsulphatase over time agree well with the dynamics of C mineralization, the differences between wheat treatments at each date were not sufficiently large or consistent to draw conclusions about relationships.

The glucose treatment was introduced into our experiment as a "control" simple substrate for the microbiological studies performed in parallel (S. Puitti et al., Nancy). By comparing the Wheat 4 and Glucose treatments, which were equivalent in term of amount of C added, we can observe the impact of the substrate's biochemical composition on the dynamics of decomposition, the C mineralization rate being strongly related to the substrate's accessibility to the microbial biomass. The decomposer microorganisms used glucose more efficiently because it is a substrate of lower molecular weight, simple, soluble and easily diffused in the soil matrix (Chowdhury et al., 2000). We also observed that the demand for N was about 145 mg N immobilized per g of C mineralized at day 3, i.e. a much higher demand that the value calculated previously for wheat. This suggests that a specific microbial biomass decomposing the glucose developed with higher N demand. From day 3 remineralization of N occurred, suggesting a fast turnover of this biomass. For sulphate, we did not observe a very high rate of S immobilization (a ratio of 10 should lead to a net immobilization of -15 mg S kg^{-1} soil at day 3 and the net immobilization was only about -5 mg S). Indeed the soil sulphate pool was almost depleted over the 0-28 day period, varying between 0.5 and 3 mg S-SO_4 kg^{-1} soil, and we hypothesize that sulphate availability was limiting during the first days of glucose decomposition. The fast turnover of soil biomass and the associated mineralization-immobilization processes might explain the variations in immobilized S observed during the incubation for this treatment. Wu et al (1995) also observed that the addition of a labile substrate such as glucose can result in a rapid increase in microbial biomass which requires more S nutrient from the soil. Chapman (1997) suggested that the low S requirement observed

during glucose decomposition was the result of the rapid turnover of the biomass formed and hence of the rapid turnover of the immobilized S.

4.3. Response of arylsulphatase activity to S availability and C addition

Arylsulphatase, an enzyme of microbial origin, is known to catalyze the hydrolysis of a diverse range of sulphate esters substrates. It is currently considered a key enzyme able to mineralize organic S (Kertesz, 1999; Klose and Tabatabai, 1999). The process is mainly a response to microorganisms' need for sulphates. Mineralization of C-bonded S is strictly dependent on microbial activity, whereas sulphatase enzymes can readily hydrolyse the sulphate esters in soil. We observed (experiment 1) that microbial ARS activity was not affected by increasing concentration of SO_4-S. This is not in accord with the finding of Ganeshamurthy and Nielsen (1990) that the microbial ARS activity was stimulated by SO_4-S concentration. Our experiment 2 (wheat and glucose) clearly showed that the addition of C substrate induced microbial growth and a fast peak in ARS, suggesting that the microbial growth associated with substrate decomposition stimulates the production of arylsulphatase. Usman (2008), using sub-samples of our soils, showed a close relationships between ARS and abundance of ARS-producing bacteria in all the C-amended treatments and the control, for all dates (R^2= 0.80). We observe that the differences in ARS between treatments persisted over the 56-day period, despite the sharp decline in soil biomass, for example for the glucose treatment. This means that the enzyme produced by soil biomass was partially stabilized with the organic matter in soil. It also suggests that the level of ARS in a soil may be primarily due to the activity of the heterotrophic biomass decomposing organic substrates and to the ability of the soil to protect enzymes from degradation, rather than to S limitation, as suggested by different authors (Klose and Tabatabai, 1999).

5. Conclusion

We studied the effect of S availability on C and S dynamics in conditions where the N availability was not limiting, in order to (i) understand the relationships between C addition rate and S microbial requirements during decomposition, and (ii) examine the hypothesis that S immobilization could be higher when mineral S supply is higher, as was observed earlier with nitrogen. Our data, obtained by increasing soil S supply and increasing rates of added C substrates did not show any suggestion of limitation of microbial activity by S supply in the conditions investigated, except perhaps with amendment by glucose. In this latter case, the very high "instantaneous" microbial demand (< 3 days) may have limited S immobilization and perhaps C mineralization, but for this particular substrate, the experimental design chosen did not allow us to demonstrate or disprove a limitation of C decomposition, even if the available C: available S ratio of about 1200 suggests that S was limiting. However, with increasing rate of wheat straw addition, we calculate a fairly constant ratio of 10 between immobilized N and immobilized S, which, combined with the low S fluxes observed in the literature, suggests that in most cases the soil S supply would not be limiting for the decomposition of plant residue. We had no evidence of an increasing immobilization of S with increasing S supply, but again the small absolute amounts involved make these investigations difficult. One option would be to use isotope approaches such as those recently published (e.g. Eriksen 1995; Nziguheba et al. 2006). Another possibility would be to investigate C-N-S relationships with the help of models capable of testing hypotheses (see Chapter 6).

Chapitre 4

Decomposition of crop residues of different chemical qualities and sulphur contents: effect on soil C, N and S dynamics

1. Introduction

Residues from common cultivated crops are an important resource, supplying nutrients for crop production and also affecting the physical, chemical, and biological functions and properties of soil. When crop residues are incorporated into the ground, their decomposition has both positive and negative effects on crop production and on the environment. Management can only be improved with a better understanding of residue, soil, and management factors and their interactions, which affect the decomposition and nutrient release processes. Information on the decomposition kinetics of crop residues is required to ascertain the actual amount of crop residue needed to maintain soil productivity and protect the environment by minimizing nutrient losses and soil erosion.

Zhao et al. (2002) reviewed crop responses to S fertilization in Europe and concluded that S is now one of the most limiting nutrients for agricultural production in many European countries. This is due to reduced concentrations of primary air pollutants, the use of concentrated-NPK low-S fertilizers and the declining use of S-containing fungicides (Scherer, 2001). But although sulphur deficiencies have become common in recent years, compared to nitrogen there has been little conceptualization to help design S fertilization strategies for cropping systems. The quantity and pattern of mineralized sulphate available to a crop depends on mineralization of soil organic matter (e.g. Riffaldi et al., 2006; Niknahad, this thesis, chapter 2) and release from plant residues after incorporation into the soil. The effect of the chemical composition of plant residues on their rates of decomposition has been extensively investigated in recent decades (e.g. Kumar and Goh, 2000), as has the interaction between C and N during decomposition (Mary et al., 1996; Jensen et al., 2006). The impact of plant residues on S turnover in soils was investigated early on (Barrow, 1960, Stewart et al., 1966). Recently, as S deficiency in cropped soils has increased, more research has been done to better quantify and model the turnover of S, the role of soil biomass and the relationship

with C dynamics (Eriksen, 1995; Wu et al, 1995; Nziguheba et al., 2006). As with N, it is important to distinguish between the effect of the residues' biochemical properties and their S content. It is also important, as with N, to differentiate the specific role of the residue S from the general availability of S for decomposition, which depends also on experimental conditions and soil type. The aim of our study was to investigate the effect of the nature of the plant residues. We used residues of different biochemical compositions and sulphur contents, in non limiting sulphur conditions, to assess the relationship between S mineralization and residue decomposition. The residues were taken from arable, pasture and forest situations and were selected so as to cover a wide range of S contents.

2. Materials and methods

2.1. Soils

The soil was sampled in late winter. It was taken from the 0-15cm layer on experimental plots at the Mons INRA Experimental Station (latitude 50°27′N, longitude 03°56′E), in Northern France. The soil, a deep loamy soil (Orthic Luvisol), was kept moist and stored at 4°C until used for incubation. Field-moist soil samples were air-dried, crushed to pass through a 5-mm mesh, sieved to homogenize and to remove large plant residue fragments, and analyzed for their main physico-chemical properties (Table 1). Texture was determined by the pipette method (NF ISO 11277) and pH was determined in water (soil-to-water ratio of 1:5), potentiometrically. Total nitrogen was determined by the modified Kjeldahl procedure after sulphuric acid digestion (NF ISO 11261). Organic carbon was determined by sulfochromic oxidation (NF ISO 14235) and total sulphur by the dry combustion method (NF ISO 1578), using an elemental analyzer (CNS 2000, Leco). The percentages of total $CaCO_3$, Clay, Silt,

Sand, were 0.6%, 16.7%, 76.4% and 6.4%, respectively. Soil pH was 8. The main characteristics of the soil we used are shown in Table 1.

Table 1: Particle-size distribution and chemical characteristics of the soil

Texture	Land use	Clay g/kg	Silt g/kg	Sand g/kg	pH H_20	$CaCO_3$ g/kg	Organic C g/kg	Total N g/kg	Total S g/kg	C/N	C/S	N/S
Loamy	arable	167	764	64	8	6	9.2	1	0.28	9.2	32.9	3.6

2.2. Crop residues

Five different types of plant residues were used for incubation: mature oilseed rape straw (Brassica napus L.), winter wheat straw (Triticum aestivum), beech leaves (Fagus sylvatica), vegetative phase aerial parts of mustard (Sinapsis arvensis) and tall fescue (Festuca arundinacea). The residues used were collected from field experiments, except for the oilseed rape straw which came from plants grown under hydroponic conditions (Trinsoutrot et al., 2000a) and the beech leaves which came from trees grown in large pots. The residues were air-dried before use. A sub-sample of each residue was ground and analysed for chemical and biochemical characteristics. The soluble fraction was determined by hot water extraction (100°C) for 30 min followed by extraction with a neutral detergent (100°C) for 60 min (Linères and Djackovitch, 1993). The hemicellulose, cellulose and lignin fractions were then determined using the method described by Van Soest (1963). The nitrate and the sulphate contents were determined in sub-samples of finely ground residue by water extraction followed by ion chromatography determination (Bordeaux, Laboratoire d'analyses USRAVE). The total C and N contents of the plant residues and fractions were measured using an elemental analyzer (NA 1500, Carlo Erba). The total S of the plant residues was determined by Inductively Coupled Plasma spectrometer (ICP).

Selected characteristics of the residues are given in Table 2. The 5 residues considered differed markedly in their composition and biochemical fractions, for example the soluble fractions (16 to 68 % of dry matter), cellulose (8 to 43 %) and lignin-like fractions (5 to 28 %). The C/S ratios ranged from 60 to 672 and the C/N ratios from 7 to 92. The water extractable sulphate content of the residue was particularly high for mustard, tall fescue and to a lesser extent for rapeseed straw. It represented about half of the residue total S measured for these residues. Consequently the C/Sorg of the residues increased much as compared to C/S, particularly for mustard, fescue and rapeseed residues. and Only the mustard residue contained any nitrate.

The residues were chopped with scissors to an average size of 3-5 mm, homogeneously mixed with wet soil to a concentration of 1.5 g C per kg soil. A control treatment was set up with soil but no plant material.

Table 2: Selected chemical and biochemical properties of the plant residues used. Fractions were obtained from proximate analysis (Van Soest, 1963) and are expressed as % of residue dry matter.

Chemical fractions		Wheat straw	Mustard	Beech leaves	Tall fescue	Rapeseed straw
C organic	%	42.7	43.6	50.9	43.8	43.0
N total	%	0.46	6.00	0.78	2.72	1.40
S total	%	0.088	0.728	0.075	0.282	0.136
S organic	%	0.065	0.301	0.063	0.135	0.071
N-NO_3	%	0.004	0.845	0.002	0.019	0.002
S-SO_4	%	0.023	0.427	0.012	0.147	0.065
C/N		92.8	7.2	65.2	16.1	30.0
C/S		486	60	672	155	316
C/Sorg		657	145	808	324	606
Biochemical Fractions						
Soluble	%	15.9	68.1	28.1	27.6	33.1
Hemicellulose	%	30.8	12.1	11.1	38.6	17.3
Cellulose	%	43.4	8.5	32.3	27.9	36.5
Lignin-like	%	9.9	11.0	28.5	5.2	13.1

2.3 Incubation

We set up five treatments: control soil (no residue added), soil + wheat residue, soil + mustard residue, soil + beech residue, soil + fescue residue. All treatments were set up to ensure that mineral N and mineral S were not limiting for microbial growth (Recous et al., 1995; Chapman, 1995). A solution containing Na_2SO_4 and KNO_3 was prepared, with a concentration calculated to add 20 mg S-SO_4 kg^{-1} soil and 70 mg N-NO_3 kg^{-1} soil respectively. The soil was moistened to 80% of its water-holding capacity (WHC) using a fine spray of the solution.

Sub-samples of 2 x 40 g (oven dry basis), were placed in 2 beakers which were introduced into sealed 1-litre glass jars (one beaker for measuring N content and microbial biomass, 1 beaker for measuring S content and ARS activity). Incubation was performed at 20±1°C for 175 days with 3 replicates per date and per treatment. Carbon mineralization was measured with CO_2 traps (20 ml 0.25 M NaOH) placed in the glass jars, and the NaOH solution was renewed periodically to prevent it from becoming saturated. Soil moisture was maintained throughout incubation by weighing the beakers periodically and adding deionised water whenever necessary.

The experiment comprised three replicates for each of the five treatments and eight destructive sampling times (0, 4, 7, 14, 27, 55, 100, 175 days). All in all there were 240 samples (2 sub-samples x 8 dates x 3 replicates x 5 treatments). At each sampling time, 5 g of soil was removed from each beaker for each treatment, for moisture determination after drying at 105 °C for 24 h, and the other 35 g were used for analytical measurements (15g for mineral N extraction and 20 g for microbial biomass measurement from one beaker, 15g for mineral S extraction and 20 g for ARS activity from the other). For CO_2 measurement, 12 sampling dates were planned (2, 4, 10, 15, 22, 30, 41, 55, 85, 100,148, 175 days).

To extend the range of crop residue characteristics, the data obtained with rapeseed straw in the previous experiment (Chapter 3) was also included where possible. In this case, net

mineralization of C, N and S was calculated using the control treatment from that experiment.

2.4 Analytical measurements

The CO_2 trapped in the NaOH solution was precipitated with 0.1M $BaCl_2$ solution and back titrated with 0.25 M HCl. Carbon mineralization from the residues was calculated as the difference between the samples with residues and the control samples. The soil mineral nitrogen (NO_3^- and NH_4^+) was extracted with 1M KCl (1:3 soil/solution ratio, 30 min of agitation at 20°C, centrifuged for 20 min at 5,800*g) and filtered on a Durieux No.3 paper disc. The mineral N in the soil extracts was analyzed by continuous flow colorimetry (TRAACS 2000, Bran and Luebbe). The concentrations of NO_3^- and NO_2^- were determined as described by Kamphake et al. (1967) and NH_4^+ concentration as reported by Krom (1980). The soil mineral sulphur (SO_4^{2-}) was determined on 15-g (o.d.b.) soil sub-samples shaken with 75 ml 0.016 M KH_2PO_4 in an end-over-end shaker for 30 min (Walker and Doornenbal, 1972). The suspension was then centrifuged (20 min at 5,800*g) and filtered on a Whatman nylon membrane (0.45µ). Soil extracts were analyzed for SO_4^{2-}-S by ionic chromatography (METROHM, 761 Compact IC). The carbon content in the soil microbial biomass was determined by the fumigation-extraction method proposed by Vance et al. (1987), using the modification suggested by Chaussod et al. (1988), with the extraction of the soluble carbon from samples, fumigated or not with chloroform, by 40 ml 0.03 M K_2SO_4 (soil-to-solution ratio ¼, 30 min shaking at 20°C), followed by separation of the extracts by centrifugation (20 min, 5,800*g) and storage at -18°C. The soluble carbon concentration of the extracts was measured with an auto-analyzer (1010, O.I. analytical) using an oxidation method at 100°C in a persulfate medium, the CO_2 produced being measured by infrared spectrometry (Barcelona,

1984). Microbial biomass carbon was calculated from the difference between soluble C in fumigated and unfumigated soil, after division by a coefficient K_{EC}=0.38 (Vance et al., 1987). As proposed by Tabatabai and Bremner (1970), the ARS activity was determined in the soil sample. Fresh soil (1 g) was incubated at 37 °C for 1 hour in a solution containing 4 ml of acetate buffer at 0.5 M (pH 5.8), 0.25 ml of toluene and 1 ml of 50 mM of potassium p-nitrophenyl sulfate. Then 1 ml of 0.5 M $CaCl_2$ and 4 ml of 0.5 M NaOH were added and the solutions filtered. The activity was calculated after colorimetric determination (absorbance at 400 nm) of the p-nitrophenol released. ARS activity was expressed in µg p-nitrophenol g^{-1} dry soil h^{-1}.

2.5. Statistical analysis

STATISTICA 6.1 software, Statsoft, Inc., was used to run simple linear regression and multiple regression analysis between C, N and S mineralization over time and the biochemical characteristics of the plant residues. All the measured variables were found normally distributed so a one-way analysis was performed on all the variables, with treatments as independent and interactive sources of variance. When significant F-test results were obtained, means separation was performed using a Tukey's test at the 0.05-probability level.

3. Results

3.1. Carbon mineralization

The rates of mineralization of CO_2-C during the incubation period (Figure 1) varied considerably among the treatments. The average rate of mineralization of the control soil from day 0 to day 175 was 1.43 mg $kg^{-1}day^{-1}$. The mustard, fescue and rapeseed residue treatments showed similar patterns; the highest C mineralization rates were observed at day 2, followed

by a sharp decrease until day 55 and a slow, continuous decrease from there to the end of incubation (day 175). With the wheat straw and beech leaf treatments, C mineralization rates were also highest at day 2 but the rates were much lower than for the other 3 treatments. C mineralization then decreased slightly until day 15. The beech leaf mineralization rate remained slower and was almost constant until the end of incubation.

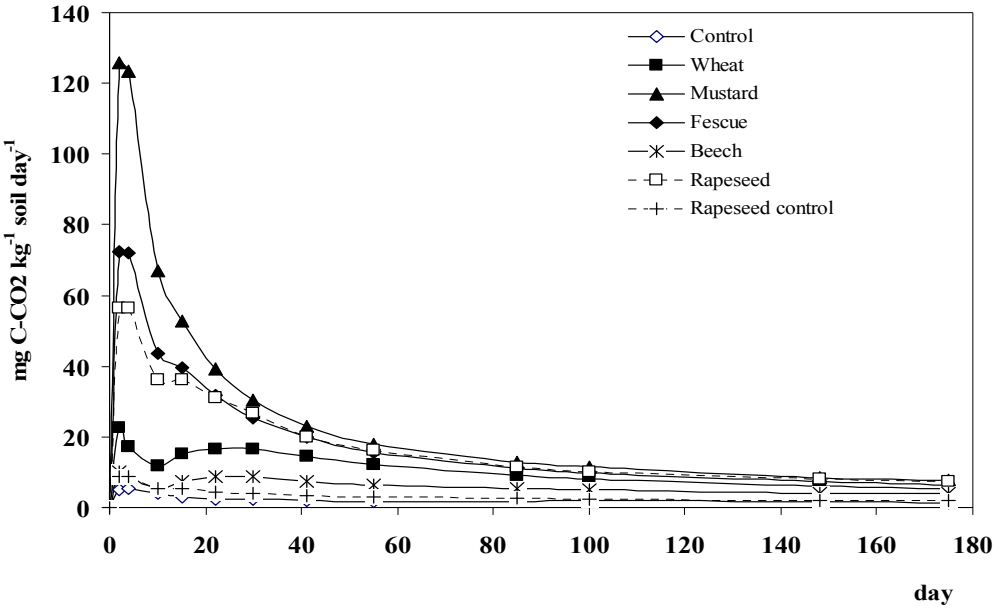


Figure 1a: Rates of C mineralization (mg C /kg soil /day) in soils amended with wheat straw (■), mustard plant (▲) , tall fescue (♦), beech leaves (∗), rapeseed straw (□), and in control soil (◇). Dotted lines correspond to the rapeseed incubation. The incubations were run for 175 days at 20°C. Values are the mean of 3 replicates.

The cumulative amount of CO_2 in the treatments amended with residues was much higher than with the control soil (data not shown). The highest cumulative CO_2 was observed in the treatments amended with mustard and rapeseed residues, while the wheat and fescue treatments were intermediate. The beech leaf treatment showed the lowest cumulative CO_2. With the mustard, rapeseed and fescue residue treatments most of the CO_2 was produced in the first 30 days, while with the wheat residue treatment only half the CO_2 was produced in

that time. With beech leaves, mineralization was much slower and was almost linear from day 30 to day 175.

The percentage of decomposition of residue C during the incubation period (Figures 1b) was 29.7 ± 1.1 % for beech leaves, 47.2 ± 5.0 % for wheat straw, 58.2 ± 6.8 % for fescue, 62.0 ± 6.0 % for rapeseed straw and 72.1 ± 2.1 % for mustard. As expected from the pattern of C-CO_2, for the mustard, rapeseed and fescue residues a high proportion of the C mineralized over the entire incubation period was mineralized during the first 30 days. This was not the case for wheat and beech leaves; with the latter, for example, only 13 % of total C mineralization occurred during that period.

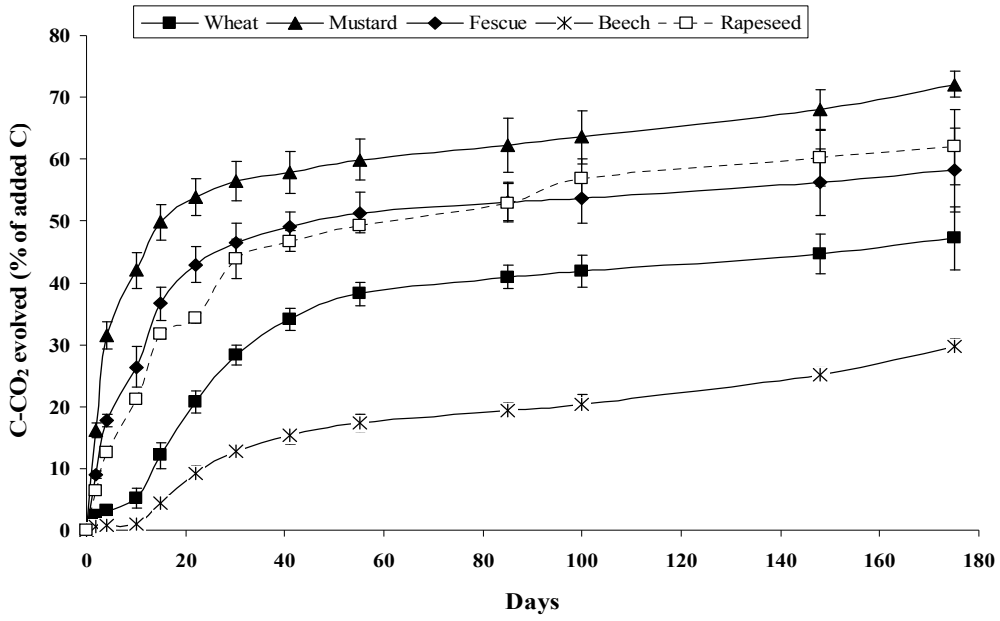


Figure 1b: Cumulative amounts of residue-C mineralized (% of added C) in soils amended with wheat straw (■), mustard plant (▲), tall fescue (♦), beech leaves (∗) and rapeseed straw (□). The dotted line corresponds to the rapeseed incubation. The incubations were run for 175 days at 20°C. Values are the mean of 3 replicates. Bars are the standard errors of the means.

3.2. N mineralization and immobilization

At day 0, a higher concentration of N mineral was observed in the mustard treatments than in the control or the other residue treatments (equivalent to about + 50 mg N kg^{-1}soil). This increase in soil N content is partly explained by the water-extractable N-NO_3 content of the mustard residue, which contributed the equivalent of + 30 mg N kg^{-1} soil. The rest was probably due to higher plant nitrate extraction by KCl. The rapeseed treatment had a lower soil mineral N content because it was taken from an earlier experiment in which the initial mineral N content, before addition of N, was lower. In fact we used the same soil batch, which mineralized slowly when kept at 4°C.

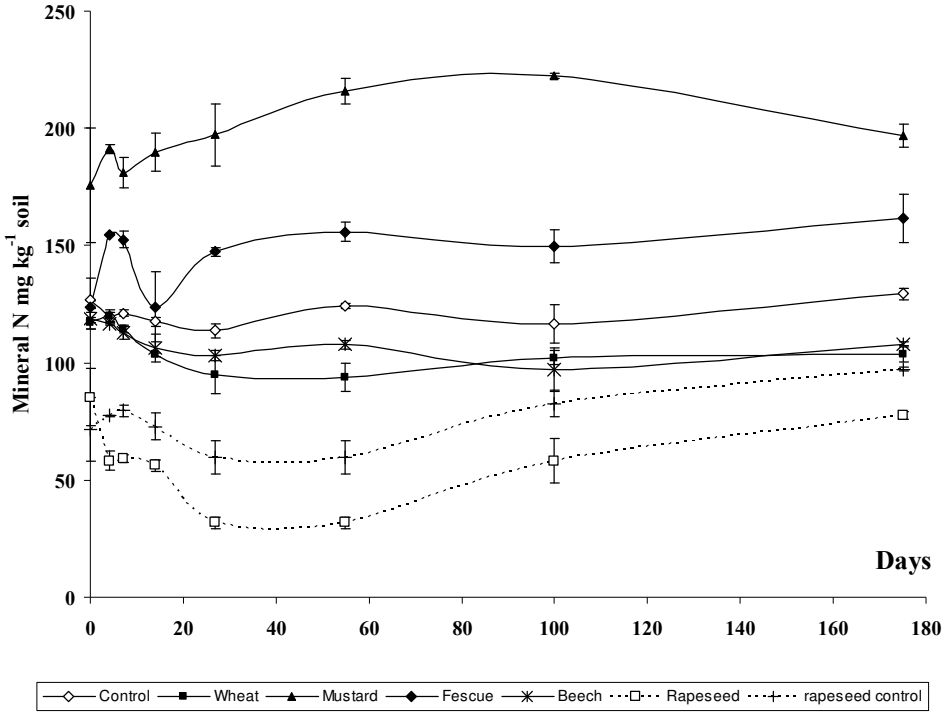


Figure 2: Mineral N (ammonium + nitrate) in soils amended with wheat straw (■), mustard plant (▲), tall fescue (♦), beech leaves (∗), rapeseed straw (□), and in control treatments (◇). The control treatment from the rapeseed experiment is also shown (+). The incubations were run for 175 days at 20°C. Values are the mean of 3 replicates. Bars are the standard errors of the means.

During the first 4 days of incubation, a rapid net mineralization of N was observed in the treatments amended with mustard (+15 mg N kg^{-1} soil) and fescue (+30 mg N kg^{-1} soil) compared to their respective contents at time 0. Then we observed a sharp decrease in soil N content, suggesting that N was being immobilized faster than it was being mineralized during days 4-7 for mustard and days 7-14 for fescue. Then again a fast net accumulation of N was observed for both treatments, followed by a steady increase in mineral N until day 100. After that, a net decrease in N content was observed in the mustard treatment, which is not easily understandable. In the treatments amended with wheat and beech, the mineral N content decreased less, and slowly, reaching a maximum net immobilization of about -20 to -25 mg N kg^{-1} soil at day 55 (wheat) and day 100 (beech leaves). With rapeseed, a sharp net immobilization of about -28 mg N kg^{-1} soil was observed during the first 4 days, then a slower decrease until day 55, reaching a maximum net immobilization of about -43 mg N kg^{-1} soil, followed by a slow net mineralization until day 175.

3.3. S mineralization and immobilization

As with N, at day 0 a high concentration of mineral S was observed in treatments amended with mustard and fescue compared to the control and the other treatments (about +30 and + 10 mg $S\text{-}SO_4$ kg^{-1} soil, respectively). This is only partly explained by the high level of water soluble sulphate in the plant residue. Taking into account the proportion of residue added to the soil, 15 and 5 mg water soluble $S\text{-}SO_4$ kg^{-1}soil were added by these two plant residues respectively. The rapeseed treatment had a lower initial mineral S concentration because this treatment came from a different experiment, in which the rapeseed treatment at time 0 contained +7 mg $S\text{-}SO_4$ kg^{-1} soil compared to its control soil. During the first 14 days of incubation, rapid immobilization of S was observed in the mustard and fescue treatments compared to the control, with about -20 and -12 mg $S\text{-}SO_4$ kg^{-1} soil immobilized respectively

(Figure 3a). Thereafter a phase of net mineralization started for both these treatments. At the end of incubation the S balance was positive compared to the control, if we consider the net release of S from the mustard / fescue, but still negative if we consider the difference between day 0 and day 175 for each residue (Figures 3a and 3b). The soil mineral S contents varied much less for the wheat, beech and rapeseed treatments, which behaved similarly despite belonging to two different experiments. There was very little net immobilization, with some small positive or negative changes over the entire incubation. The net balance over the entire incubation was almost nil for these three residues, which neither released mineral S into the soil nor provoke net S immobilization.

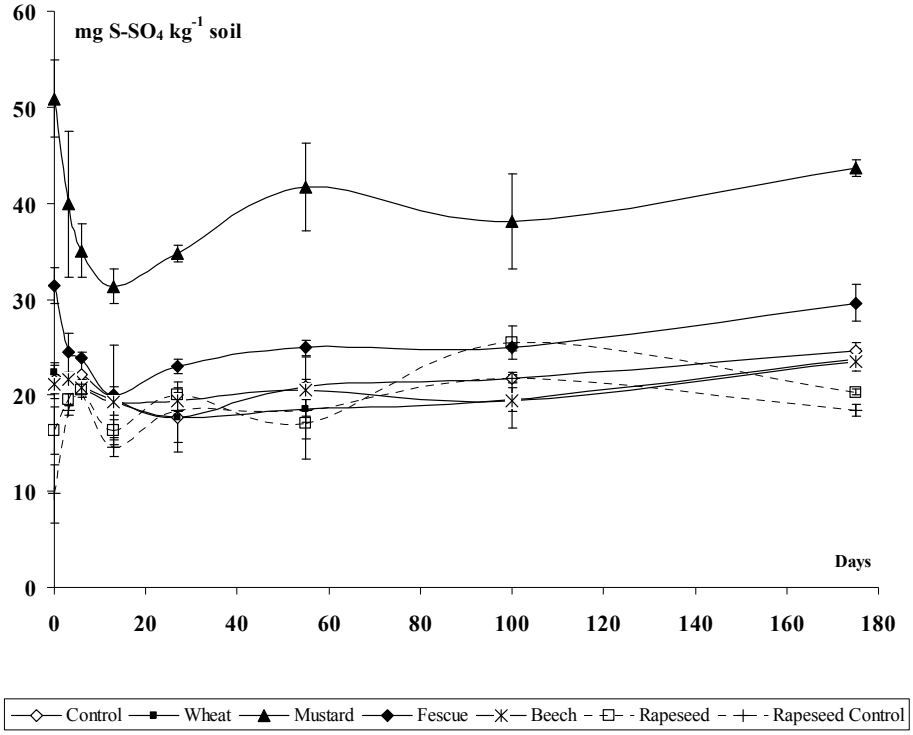


Figure 3a: Sulphate content in soils amended with wheat straw (■), mustard plant (▲), tall fescue (♦), beech leaves (∗), rapeseed straw (□), and in control treatments (◇).The control treatment of the rapeseed experiment is also shown (+). Dotted lines correspond to the rapeseed experiment. The incubations were run for 175 days at 20°C. Values are the mean of 3 replicates. Bars are the standard errors of the mean.

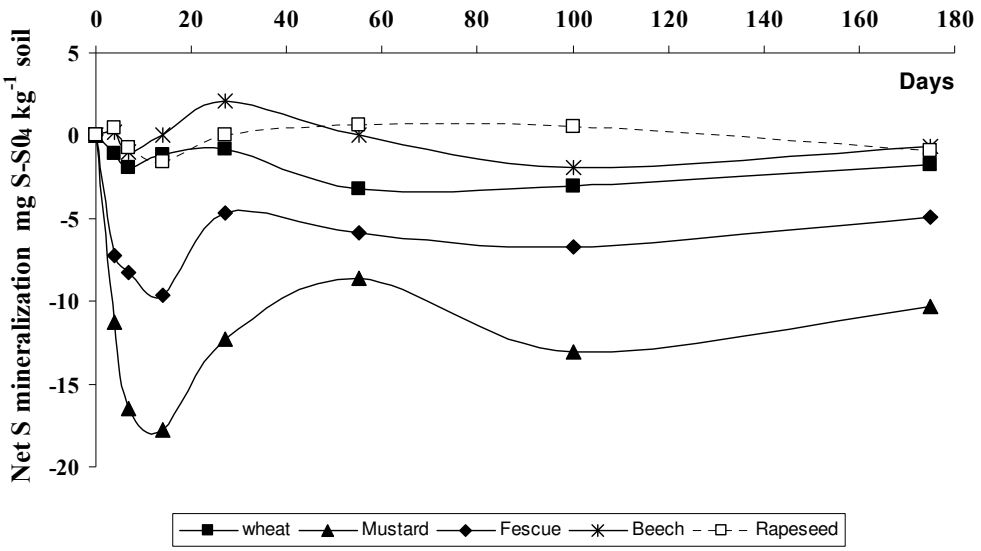


Figure 3b: Net mineralization of sulphate in soils amended with wheat straw (■), mustard plant (▲), tall fescue (♦), beech leaves (∗) and rapeseed straw (□). The data represent the differences over time compared to day 0 plus the difference with the respective control soils.

3.4. Changes in microbial biomass and Arylsulphatase activity

Figures 4a and 4b show the kinetics of soil microbial biomass carbon (SMBC) and ARS activity in the soil for each residue type and control. The initial value of microbial biomass carbon was 266 mg C kg^{-1} soil. For the experiment from which the rapeseed residue treatment was taken (Chapter 3), the microbial biomass was 200.3 mg C kg^{-1}soil. During the first 7 days of incubation, a rapid increase in SMBC was observed in the mustard and fescue treatments compared to the control (+ 221 and + 139 mg C-biomass kg^{-1} soil). A sharp decrease was observed for these treatments between day 7 and day 28, after which a slow decrease was observed until day 175. With the rapeseed treatment, SMBC peaked at day 14 and then decreased from day 55. With the wheat and beech leaves treatments, SMBC increased more slowly, peaked at day 14 and after a sharp decrease until day 27 varying slightly but not significantly over time.

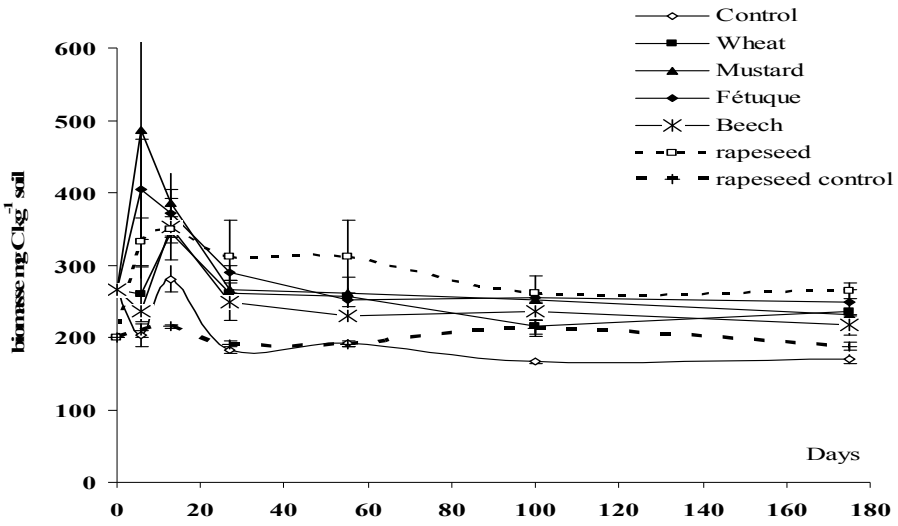


Figure 4a : Dynamics of microbial biomass C (SMBC) during incubation in soils amended with wheat straw (■), mustard plant (▲), tall fescue (♦), beech leaves (∗), control treatment (◇); rapeseed straw (□) and its control (+).

When net SMBC was considered, a significant difference was observed between mustard and fescue treatments compared to wheat and beech leaves and then any significant difference was observed until day 55, except rapeseed treatment which was significantly higher than wheat treatment. At day 100, mustard amended treatment had significant higher SMBC than wheat treatment and fescue treatment had significant higher SMBC than wheat and rapeseed treatments. At day 175, the SMBC of the residue treatments did not significantly differ from each other but remained significantly higher that the SMBC of the control treatment ($p < .0500$).

The initial value of ARS activity ranged between 27.0 (control) and 30.4 (mustard) µg PN per g soil per hour. The rapeseed treatment from the first experiment has not been plotted here, as the conditions for measurement at time 0 were not comparable to this experiment. There were no significant differences between treatments on any of the sampling dates except day 56 where beech leaves treatment showed significant difference with those amended with wheat

and with the control. The ARS activity showed quite wide fluctuations over time, with no particular trend; its value roughly doubled between day 0 and day 175.

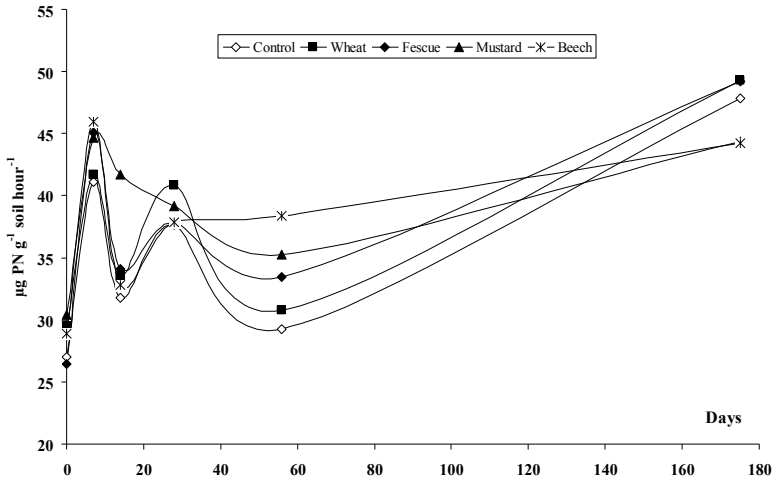


Figure 4b: Dynamics of ARS activity during incubation in soils amended with wheat straw (■), mustard plant (▲), tall fescue (♦), beech leaves (∗), and in control treatment (◇). Values are the mean of 3 replicates.

3.5 Relationships between plant residue quality and C, N and S dynamics.

The relationships between the biochemical quality of the residues and their mineralization kinetics was investigated by simple linear regression at given dates for some residue characteristics (e.g. Trinsoutrot et al., 2000), and by multiple regressions using all the characteristics obtained by the proximate analysis (Van Soest, 1963). The periods between days 0-10, 10-55 and 55-175 corresponded to the periods of fast, intermediate and slow decomposition. There was a fairly good relationship between initial C mineralization and residue soluble content at day 10 ($r^2 = 0.69$, Figure 5a). Over the longer term (day 175), there was a significant relationship between lignin-like content and cumulative C mineralization ($r^2 = 0.50$, Figure 5b). With the stepwise procedure adopted with the 4 Van Soest biochemical pools (Table 3), the soluble pool (SOL) was the only significant factor for C mineralized at

day 10 (r^2 = 0.97), and lignin (LIG) and hemicellulose (HEM) together explain cumulative C mineralized at day 55 and day 175 (r^2 = 0.97).

Measured variables during soil incubation	Equation of the model	Coefficient of determination (r^2)
C mineralized (% residue C)		
Day 10	+ 0.67 SOL – 1.13 LIG + 10.65 ($p< 0.05$)	0.95
Day 55	- 3.1 LIG – 1.13 HEM + 108.36 ($p<0.05$)	0.97
Day 175	- 3.1 LIG – 1.35 HEM + 124.48 ($p< 0.05$)	0.97

Table 3: Multiple regression models showing the relationships between C mineralization and the biochemical composition of the residues. Equations shown are best fits obtained from a stepwise procedure. SOL is soluble compounds, LIG is lignin, HEM is hemicelluloses.

The relationships between residue N or S content and net mineralization of N and S in soils were established using simple regression analysis, at days 55 and 175. Net mineralization decreased as residue C/N increased (Figure 6a for day 175) with a negative linear relationship between the two variables (r^2 = 0.83). We had to exclude the rapeseed N data from the analysis because the N min data for this treatment was inaccurate (see chapter 3).

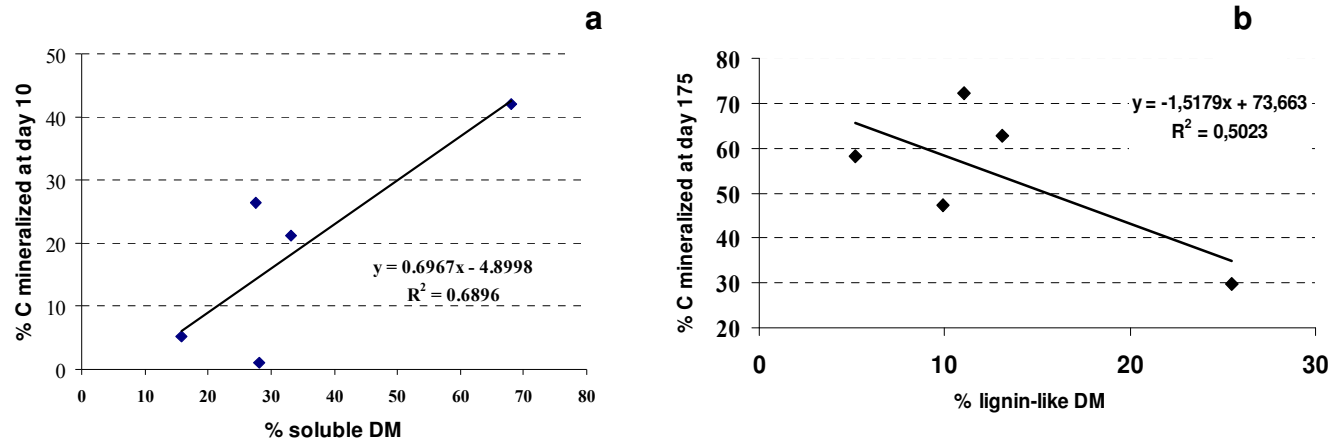


Figure 5: Relationships between cumulative C mineralization at day 10 and % soluble content of residue (Fig 5a), and between cumulative C mineralized at day 175 and % lignin-like content of residues (Fig 5b).

Net sulphate accumulation due to residue incorporation, calculated as the difference in soil S-SO_4 content between control soil and soil amended with residue, was inversely related to the residue C/S ratio, for C/S < ~ 300 (r^2 = 0.80, Figure 6b), although the number of residues studied is to small to draw conclusions for this study. When residues were ≥ 300 there was a weak net immobilization. On the other hand, when net S mineralization was calculated by the difference with time 0 and the difference with the control treatment (i.e. net S mineralization due to the decomposition of the plant residue), the S mineralized was linearly and positively related to the C/S content of the residue (r^2 = 0.53, data not shown). When the C/S was corrected from the sulphate content of the residue (C /S_{org}), the relationship was much improved (r^2 = 0.91, figure 6c).

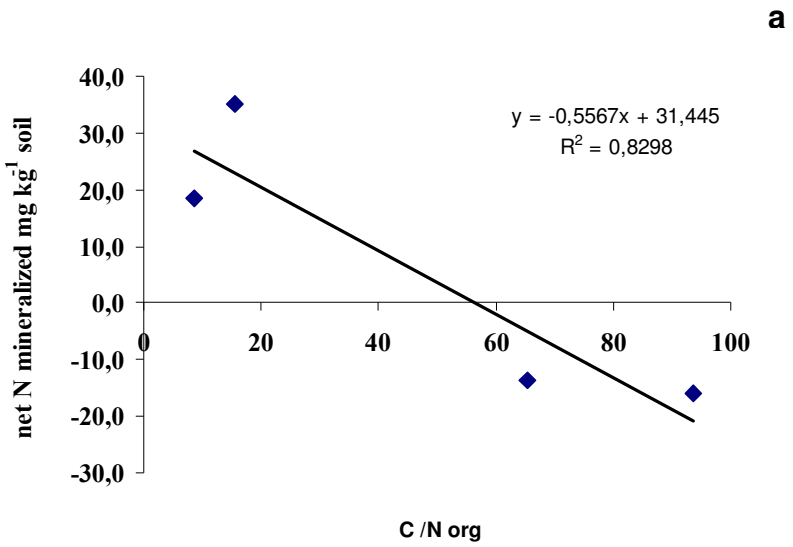


Figure 6a: Relationship between net N mineralization in soil during the 175-day incubation and residue C/N ratio. Net mineralization was calculated by subtracting from the soil mineral N content at each date, the initial mineral N content of each treatment, and the net mineralization of the control soil.

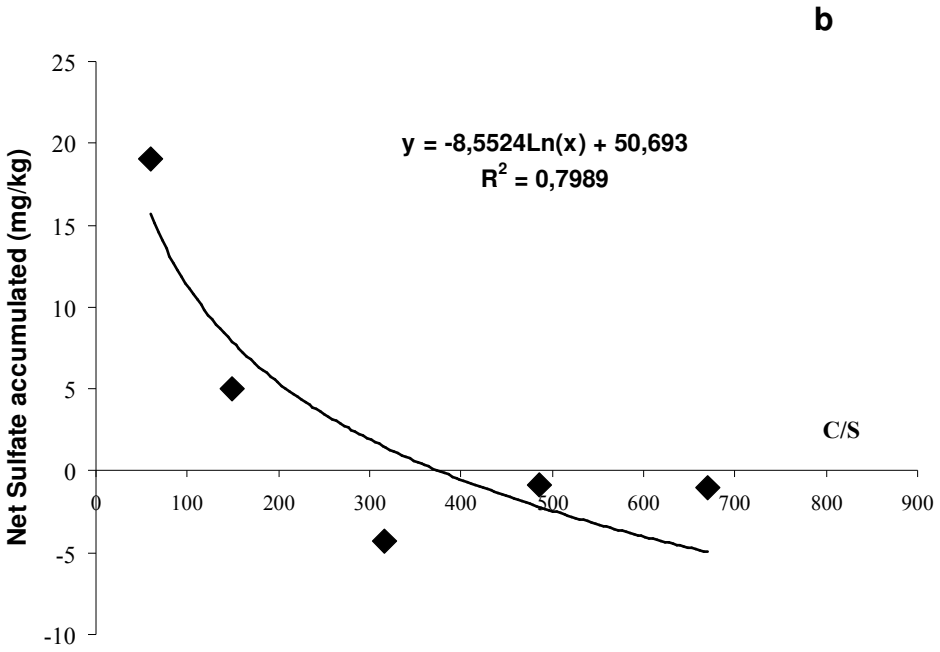


Figure 6b: Relationship between net S accumulated in soil calculated at day 175 and residue C/S ratio. Net S accumulation was the difference between the mineral S contents of the residue amended soil and the control soil, at day 175.

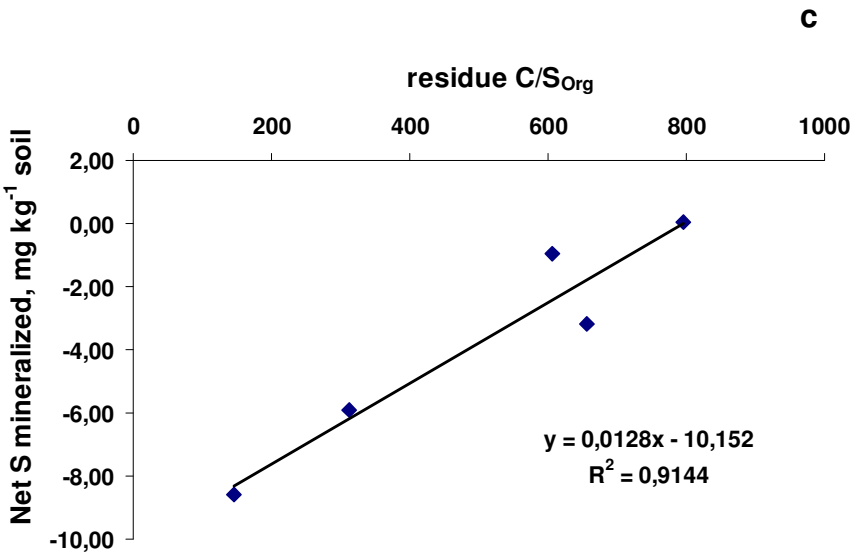


Figure 6c: Relationship between net S mineralization in soil calculated at day 175 and residue C/S_{org} ratio. Net mineralization was calculated by subtracting from soil sulphate content the initial mineral S content of each treatment and the net mineral S content of the control soil.

The C/S_{org} ratio was calculated after subtracting the $S\text{-}SO_4$ content measured in the plant residues.

4. Discussion

4.1. C and N dynamics and relationships with biochemical quality

The rate of C mineralization slowed rapidly over time, indicating depletion of the easily decomposable fractions. The kinetics of cumulative mineralization were analyzed over three periods, to which we applied multiple regression analysis to identify the main biochemical determinants of mineralization. During the first phase (d. 0-10), residue mineralization was significantly linked to the soluble C content of the residue, which is in agreement with previous studies (e.g. Trinsoutrot et al., 2000). Later (d. 10-55 and d. 55-175), we found that the mineralized C was negatively related to the hemicellulose and lignin contents. The initial increases in microbial biomass C (SMBC) coincided well with the rates of mineralization of added C; some of the C may be water soluble and very rapidly available to microflora (Cheshire et al., 1998). The biomass-C followed the mineralization kinetics, peaking very early, and the residues ranked in the same order for biomass-C as for mineralization rate: mustard > fescue > rapeseed > wheat > beech.

Therefore the residues decomposed mainly according to their biochemical composition, as neither N nor S were limiting nutrients for decomposition (Recous et al., 1995, Niknahad, chapter 3, this document). Mustard is considerably more labile and, at the same addition rate, might be expected to produce a greater increase in soil microbial biomass and C mineralization than the other residues. However, the initial increase of microbial biomass in the beech leaves treatment was much lower than for fescue despite their having the same soluble-C content. This may be because of the high lignin content of beech leaves and the low accessibility of its soluble C for the microbial biomass. Indeed the soluble C to lignin-like

ratio ranked the 5 crop residues according to their initial C mineralization rate and SMBC peak (6.2, 5.3, 2.5, 1.6 and 0.9 respectively). After initial decomposition, mineralization of the residues was strongly related to their lignin and hemicellulose contents (r^2=0.97).

Net N mineralization was linearly related to the C/N ratio, which expressed the balance between residue N release and microbial N immobilization during decomposition. This confirmed numerous results, particularly those obtained under similar non limiting N conditions for decomposition (e.g. Trinsoutrot et al., 2000; Coppens, 2005, Jensen et al., 2006). In non limiting conditions, biochemical quality is the driving factor for residue decomposition, N kinetics follow C dynamics and the net balance depends on the C/N of the residues.

4.2. S dynamics and relationship with residue C/S

The dynamics of S in the soil varied widely according to the biochemical quality and initial S content of the residue. The measurement of soil phosphate-extractable sulphate content at time 0 after residue addition showed significantly higher sulphate contents with mustard and fescue residues. The standard water extraction of plant indicated that in these residues water-extractable sulphate represented about half the total S content. The extra recovery of extractable soil sulphate at time 0 was therefore not fully explained by the water-extractable sulphate, suggesting that other forms of S were also extractable. Returning residues to the soil adds large amounts of S. In our experiment, equivalent to incorporating 3.6 tons of mustard biomass per hectare, this amounted in the short term to 5 times as much sulphate as the basal soil sulphate content of the topsoil at the start. Nziguheba et al. (2006) also found an immediate increase in extractable sulphate of about +8 mg S kg^{-1} soil for cabbage residue having a C/S of 37. The further increase in S content during the days following incorporation also suggests that S is very rapidly hydrolyzed out of the residue (Nziguheba et al 2006). It

has been reported that S-containing proteins and amino acids such as methionine and cysteine are very labile to microbial decomposition, which explains the rapid release of S from plant residues incorporated into soil (Wu et al., 1993; Tabatabai and Chae, 1991). These compounds were reported to represent about 90% of the total S in species such as alfalfa used in the study by Tabatabai and Chae (1991), resulting in rapid S mineralization. It is to be expected that mustard and fescue should contain high levels of methionine-derived compounds, as this is a known feature of Brassicaceae and Poaceae. This fast release, due partly to solubilization of sulphate and partly to hydrolysis of organic sulphates, was also reported by Eriksen (1995) in a study examining gross and net fluxes with 16 different plant residues having C/S ratios ranging from 50 to 600. In that study the author measured neither the initial soluble S pool in the residue nor the actual "t0" value of the amended treatments, so the mineralization data included both the release of soluble S and the mineralized S.

On the other hand the rapeseed, wheat and beech treatments showed neither extra S accumulation at time 0 nor net S mineralization during decomposition. Their C/S was above the critical value of about 200-400 suggested for net immobilization (Barrow, 1960; Chapman, 1997; Eriksen, 1995; Stevenson, 1986; Tabatabai and Chae, 1991, Wu et al., 1995). The observed negative relationship between net S mineralization and residue C/S (Figure 6b) is also found in the literature cited above and is mainly due to the plant mineral S content, not the S mineralization-immobilization turnover associated with the decomposition of residue C by heterotrophic micro-organisms. We suggest that the log-linear fitting curve found (Figure 6b) reflects the existence of two S pools in the plant: a mineral or very labile one responsible for the low plant C/S, and a more stable one associated with the plant's structural components.

4.3. S mineralization-immobilization and biomass C dynamics

When looking at actual net S mineralization (calculated by differences with time 0 and with the control), we showed that much higher immobilization was observed with mustard residue and fescue, which have lower C/S content, concurrently to the high C mineralization rate and large increase in biomass C. Conversely, net S immobilization was hardly detectable with wheat, beech and rapeseed residues. Wu et al. (1995) demonstrated that, as for N disappearance, the disappearance of S-SO_4 during decomposition of C substrates was closely associated to the C dynamics and therefore related to the S demand of the soil decomposer biomass. Studying 9 soils from North East Scotland, Chapman (1987) indicated that soil biomass S, representing 0.9 to 2.6% of soil total S, was strongly correlated with biomass C and that the C/S ratio of the soil biomass ranged from 31 to 70. Using the biomass C and net S immobilization obtained at day 7, and assuming that between day 0 and day 7 the net S immobilization reflects fairly well S assimilation by the decomposer biomass, this means that the biomass should have a C/S ratio of less than 20 to explain the high rates of S immobilized by mustard and fescue in our experiment. This is far below the range of values given by Chapman (1987) but, as discussed by Eriksen (1995), the C/S of the microbial biomass may vary according to the organic material on which it grows. Later on, with mustard and fescue we observed a rather fast remineralization of the previously immobilized S, indicative of a fast turnover of microbial biomass. This is further confirmed by the decline in SMBC observed for the same treatments between days 4 and 14 of incubation. High ^{35}S immobilization (Piutti et al., personal communication) confirms high microbial demand, as Wu et al. (1995) also demonstrated clearly. The peak of ARS observed after the start of incubation may be due to the growth (as shown by SMBC) of soil decomposers that produce extracellular enzymes to break down macromolecules or polymers before they can be used as

energy sources (Ghani et al., 1992). Residue properties and C/S did not lead to significant differences in ARS activity at any time during incubation.

The fact that the lower the C/S_{org} residue content was, the higher the S immobilization (Figure 6c), seems to contradict all other results from the literature. First, by using either total S or organic S in the C/S ratio, we showed that the conclusion was opposite. In fact there are few data in the literature about the extent of S immobilization as a function of plant residue quality (compared to the literature on N immobilization associated with C dynamics in the soil, for example). Several authors found little or no immobilization of S regardless of the residue considered − as observed in our study for the wheat, rapeseed and beech residues. Stewart et al. (1966) showed with glucose and cellulose that the required amount of S to decompose S-free organic substrates depended on the substrate. They hypothesized that S requirements might depend on the microbes' need for S to produce extracellular enzymes, which depends on the nature and recalcitrance of the substrate to be decomposed.

Our data still seem to contradict the few studies that have used isotope techniques with ^{35}S to quantify gross S fluxes. Eriksen (1995) found that gross immobilization increased linearly with residue C/S for oilseed rape and perennial ray grass, while gross mineralization was not related to C/S. Interestingly, the author had to exclude the wheat straw treatment from his analysis, because of its "deviation" from the relationship found with other residues. Eriksen also found a weak but significant negative relationship between residue lignin content and gross mineralization, and hypothesized that lignin content reflects S accessibility. However, the measure of gross S flux was made on very short time step (2-5 days' incubation) so probably the lower S immobilization is because decomposition and microbial S demand are slow to develop. Nziguheba et al. (2006a, b) ran an experiment with a C-residue addition rate and C/S ratio very similar to our experimental conditions, and a 48-day period of decomposition. Using the inverse dilution method with ^{35}S, they calculated a net

mineralization of -1.1 mg S kg^{-1} and a gross immobilization of 5.3 mg S kg^{-1} soil for the wheat straw. They did not observe any decrease in soil sulphate with green cabbage residue having a C/S of 37. However, both these studies were mainly designed to assess the possibility of applying isotope dilution techniques to the study of S cycling in soils; they investigated residues of few plant species and did not characterize the residue biochemical properties or the C dynamics. To explain the unexpectedly high net S immobilization we observed with mustard and fescue residues, we might make two further hypotheses. Firstly that the S forms provided by the plant residue are more available to decomposers than the sulphate in the soil (owing to their chemical nature and because they are located close to the colonizing decomposers), and secondly that there is not enough residue S in wheat, rapeseed and beech leaf to meet the S needs of to microflora. The diffusion coefficient of sulphate in soil is only half the nitrate diffusion coefficient, so it is unlikely that the diffusion of soil sulphate limits the availability of S to decomposers. Therefore our data suggest a response to S availability similar to the one observed for N, where immobilization ratio (mg N immobilized per g of decomposed C) increased with increasing N availability (Mary et al., 1996).

5. Conclusion

We conclude that there is a close relationship between the immobilization of SO_4^{2-}-S and the microbial utilization and turnover of S. The data support the hypothesis that the primary mechanism by which SO_4^{2-}-S is incorporated into soil organic matter is via the microbial biomass (O'Donnell et al., 1994; Wu et al 1995). Since immobilization depends on microbial utilization and turnover, the extent to which available sulphate can be immobilized is determined both by the amount of available S in the residue and the availability of a utilizable C source (Wu et al 1995). The present study shows that the C/S ratios of organic materials provide a rough guide to their ability to release mineral S on incubation with soil. Because of

their relatively low C/S ratios, mustard and fescue resulted in net S mineralization and are therefore good sources of sulphur, whereas adding rapeseed straw, beech leaves or wheat straw, which have high C/S ratios, resulted in net immobilization and did not provide a source of mineral S for plant growth. Our results support the earlier finding of Barrow (1960) that SO_4^{2-} is released from organic materials when the C/S ratio is <200. This is mainly due to the rapid release of their soluble S content (immediate in our experiment) and to the high microbial S turnover (immobilization and remineralization) associated with these easily decomposable residues. The low net immobilization observed when the ratio is > 400 seems to be due to the absence of soluble S release and to limited availability of S for the decomposers (low gross immobilization). More research into the nature of plant S compounds and their availability to soil micro-organisms should provide a better understanding of the effect of plant residue quality on coupled C and S cycling in soils.

Chapitre 5

Discussion générale et perspectives

L'objectif de ce travail de thèse était d'étudier les facteurs de la minéralisation de S dans les sols associée à la minéralisation des matières organiques. L'hypothèse centrale au travail était le couplage des cycles du carbone, de l'azote et du soufre, en relation avec le rôle de la biomasse hétérotrophe du sol dans ces cycles. Les deux "sources" de matières organiques considérées dans ce travail ont été la matière organique humifiée du sol et les résidus végétaux. En ce qui concerne les résidus végétaux utilisés, nous avons choisi d'explorer une gamme de résidus correspondant à différents agro-écosystèmes (grandes cultures, prairies, forêt) mais couvrant aussi une gamme large de teneur en S total (ou rapport C/S). Pour étudier la décomposition de ces résidus végétaux, nous avons fait le choix d'utiliser un seul sol, afin de pouvoir comparer les résultats obtenus, sans ambiguïté. Il a par ailleurs été montré (Coppens, 2005) que les types de sol n'ont pas d'effet significatif sur la décomposition à court terme des résidus végétaux. Il est donc possible de dégager des lois générales quant aux relations C-N-S en utilisant un seul sol "modèle".

Dans un premier temps, je vais rappeler les principales conclusions obtenues par les expérimentations. Puis au titre des perspectives de travail, je vais tout d'abord montrer comment ces données pourraient servir à modéliser conjointement les dynamiques de C, N et S, et la modélisation nous permettre, en retour, de discuter certaines hypothèses (sur le couplage, sur les valeurs de paramètres tels que C/S des biomasses). Puis je vais montrer comment les résultats de ces travaux pourraient permettre de proposer des outils pour la gestion de la fertilisation soufrée. Cette dernière démarche est basée sur l'utilisation d'outil de raisonnement de la fertilisation azotée (le bilan d'azote) adapté au soufre.

1. Principaux résultats relatifs à la dynamique du soufre

1.1. Minéralisation de l'humus du sol

Le taux de minéralisation du S observé dans les 22 sols étudiés provenant majoritairement des sols de grande culture (14), de prairie ou ancienne prairie (6) et de forêt (2) est comparable avec les résultats des autres auteurs. Nous avons trouvé une corrélation significative entre la minéralisation de S et le carbone organique, l'azote total, et dans une moindre mesure avec le soufre total du sol. Aucune relation significative n'a été trouvée entre le taux de minéralisation du S et la texture du sol. La minéralisation du soufre est associée au cycle et à la minéralisation du C. Nos résultats suggèrent que le soufre lié directement au carbone est la principale source de S minéralisé dans les sols étudiés et probablement le meilleur indicateur du S minéralisable dans les sols. A partir des résultats obtenus dans le cadre de ces conditions d'études, nous proposons de prédire la minéralisation du S par une équation prenant en compte la teneur en C organique, le pH et la teneur en argile. Alternativement il est possible d'utiliser l'azote organique, C et N étant parfaitement et linéairement corrélés dans notre jeu de données. L'équation proposée dans ce travail devra être testée et sans doute améliorée, en mettant en place des incubations sur une plus large gamme de sols variant par leurs propriétés physico-chimiques et leur histoire culturale. Notamment notre gamme de sols ne comportait que des sols faiblement argileux, et par ailleurs principalement issus des situations arables. Une telle équation peut être incorporée dans un modèle global sol-plante ou dans un outil d'aide à la décision pour simuler la dynamique de S dans les sols

1.2. Relations C-N-S et limitation par S

L'effet de la disponibilité du S sur la dynamique du C et S en conditions d'azote non limitant, a été étudié afin (i) de déterminer les relations entre les quantités de C apporté et l'exigence en S par la communauté microbienne au cours de décomposition et (ii) examiner l'hypothèse que l'organisation du S pourrait être plus élevée lorsque la disponibilité de S minéral est plus élevée, comme il avait été observé précédemment avec de l'azote (Recous et al., 1995, Henriksen et Breland, 1999). Nous avons examiné ces hypothèses en faisant varier les disponibilités dans une gamme de rapport *C apporté / S disponible* de 38 à 526 pour les résidus (colza, blé). Avec l'augmentation de ce rapport C/S nous n'avons pas observé de limitation de l'activité microbienne et de la décomposition des résidus, alors que les C/S se situaient à une valeur supérieure aux seuils mentionnés dans la littérature pour les substrats complexes (résidu, cellulose). Avec l'augmentation du taux de paille de blé apporté, nous calculons un rapport entre les quantités de N et S organisées relativement constant de 10, ce qui suggère que dans la plupart des cas, l'offre de S minéral par le sol ne serait pas limitante de la décomposition des résidus végétaux car la demande microbienne en S est très faible. Ceci va un peu à l'encontre de certaines discussions trouvées dans la littérature sur une limitation possible de la décomposition par S.

Nous n'avons pas mis en évidence d'augmentation de l'organisation du S avec l'augmentation de la disponibilité du S, mais les faibles valeurs absolues rendent difficile cette quantification. L'utilisation des approches isotopiques qui permettent de quantifier la minéralisation brute et l'organisation brute est indispensable pour mettre en évidence de telles réponses.

1.3. Rôle de la qualité des résidus végétaux et de leur teneur en S

L'utilisation de résidus végétaux de qualité biochimique très contrastée (notamment leurs teneurs en composés solubles et en lignine et leur rapport C/S) et le suivi dynamique conjoint de la minéralisation du C, de N et de S et du carbone de la biomasse microbienne ont permis de quantifier les flux des différents éléments et de montrer la relation étroite avec la dynamique microbienne.

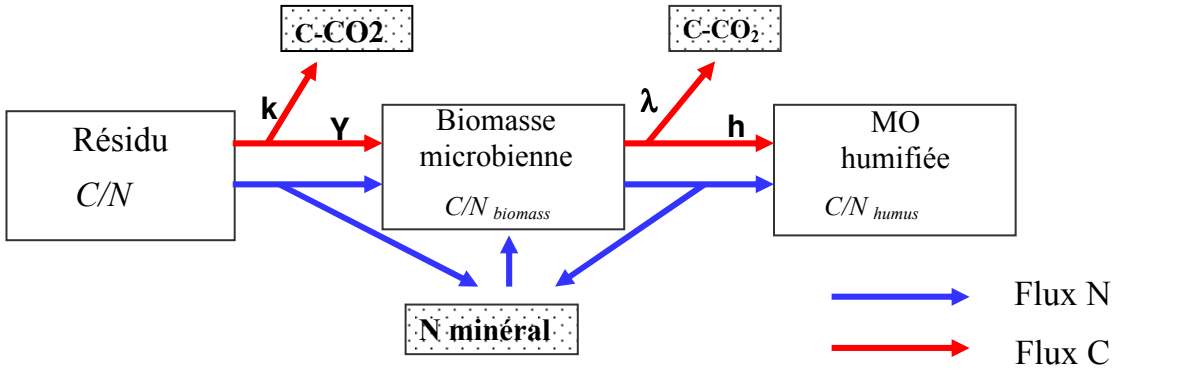
L'étude montre que le rapport C / S des matériaux organiques fournit un guide de leur capacité à libérer le soufre minéral lors de leur décomposition. La moutarde et la fétuque sont des bonnes sources de sulfate en raison de leur teneur élevée en S total et en sulfate. En fait nous avons pu distinguer la libération de sulfate du résidu consécutif à leur incorporation dans le sol, et la minéralisation nette du soufre liée à leur décomposition. Pour ces résidus riches en S, une minéralisation nette positive est constatée, tandis que pour les résidus à C/S initial élevé (tiges de colza, feuilles de hêtre, tiges de blé), une organisation nette est observée. Nos résultats sont en accord avec la constatation précédente de Barrow (1960) et d'autres auteurs que le sulfate est libéré des résidus organiques lorsque le C / S est <200. Mais nous avons montré que cela est principalement dû à la libération rapide (immédiate, expérimentalement) de leur S soluble et le recyclage microbien du S (organisation et reminéralisation) qui sont associés à ces résidus facilement décomposables. Dans le cas de la moutarde et de la fétuque, riches en S, on constate aussi une forte organisation de soufre au cours de leur décomposition, ce qui n'a jamais été rapporté dans la littérature. Les raisons de cette plus forte organisation restent à démontrer, et plus d'informations sur la nature des composés soufrés des plantes et de leur disponibilité pour les micro-organismes du sol permettront une meilleure compréhension de l'effet de qualité des résidus végétaux sur le couplage du C et S cycle dans les sols.

La bonne corrélation observée entre les dynamiques de S et de la biomasse microbienne soutient l'hypothèse que le principal mécanisme par lequel le sulfate est intégré à la matière organique du sol se fait par la biomasse microbienne. En raison de la dépendance de l'organisation à l'utilisation microbienne et son recyclage, le niveau auquel le soufre peut être organisé est déterminé par la quantité de S apporté par les résidus et la disponibilité d'une source utilisable du C. Ceci est similaire à ce qui est observé pour l'azote.

1.4. Perspective de modélisation (exemple avec STICS)

La prédiction des minéralisations du carbone, de l'azote et du soufre associés à la décomposition des résidus végétaux est importante pour la prédiction de la disponibilité des éléments nutritifs du sol, notamment pendant et entre les cycles de croissance des cultures. Le module de décomposition du modèle sol-plante STICS (Brisson et al., 1998) a été paramétré dans les conditions optimales de décomposition (résidus finement broyés et mélangés au sol, azote non limitant), et utilisé pour prédire la décomposition de résidus végétaux dans des conditions optimales (Nicolardot et al., 1991).

Nous avons fait l'hypothèse que le formalisme simple d'un tel modèle (voir description ci-dessous) basé sur la quantité et le rapport C/N des résidus végétaux, pourrait être adapté pour décrire aussi les flux de minéralisation et organisation du sulfate au cours de la décomposition de résidus végétaux, caractérisés par leur rapport C/S. Cette démarche est basée sur l'utilisation des résultats des chapitres 3 et 4 de cette thèse où sont mesurés simultanément les minéralisations de C, N et S en substituant, dans le modèle, le soufre à l'azote.



k = taux de décomposition résidu λ = Vitesse de décomposition biomasse µbienne
Y = Rendement assimilation C h = rendement d'humification

Figure 1 : Schéma représentant le module de décomposition C-N du modèle STICS (Nicolardot et al., 2001)

1.4.1. Brève description du modèle

Ce modèle simple, semi-mécaniste contient trois compartiments organiques: les résidus végétaux, la biomasse microbienne des décomposeurs, la matière organique humifiée. Les résidus végétaux et la biomasse microbienne néoformée se décomposent selon une cinétique d'ordre 1, avec des constantes de décomposition K et de λ (jour^{-1}), respectivement. Le C décomposé est soit minéralisé sous forme de CO_2 soit assimilé par la biomasse microbienne avec un rendement d'assimilation Y (g C g^{-1}). L'incorporation directe de C-résidus dans un compartiment carboné stable (humification) n'est pas prévue dans le modèle. La mortalité microbienne conduit à l'humification (matière humifiée néoformée) du C et à la minéralisation de C dans des proportions h et 1-h, respectivement (g C g^{-1}). La dynamique de N est pilotée par les transformations de C et le C/N des compartiments. La minéralisation de l'humus n'est pas incluse dans ce module, car elle est considérée indépendante de la présence de résidus végétaux (Brisson et al., 1998). Les tests de ce module ont été réalisés auparavant sur des jeux de données indépendants, utilisant des traitements variant par la nature biochimique des

résidus, les caractéristiques des sols utilisés et la température d'incubation. (Nicolardot et al., 2001; Abiven et al.2005, Giacomini et al., 2007). Les constantes de décomposition sont définies en conditions standard (20°C et humidité à 80% de la capacité au champ) dans le module. Ces coefficients sont ajustés aux conditions effectives d'incubation par des fonctions de réponse. Dans le modèle les valeurs par défaut des paramètres *K*, *C/N* de la biomasse microbienne et *h* sont des fonctions hyperboliques du rapport C/N des résidus végétaux , alors que les paramètres *Y* et λ sont des valeurs fixes (Nicolardot et al., 2001). Le module de décomposition est disponible sous forme d'un fichier excel.

1.4.2. Adaptation du modèle pour S et démarche utilisée

Nous avons utilisé les données pour lesquelles nous avons démontré que le soufre était non limitant de la décomposition, et dans ces conditions, comme pour l'azote, nous avons fait l'hypothèse que (i) le C/S des trois compartiments organiques reste constant au cours de temps et (ii) la dynamique de S est gouvernée par la transformation de C et le C/S des compartiments. Le modèle C-N-S est alors déterminé par **10 paramètres** : deux constantes de décomposition (*K* et λ), deux coefficients de partition (*Y* et *h*) et trois rapports appliqués soit à l'azote (C/N) soit au soufre (C/S) pour les trois compartiments organiques (résidus, biomasse microbienne néoformée et matière organique humifiée nouvellement formée).

La modélisation a été réalisée sur les résidus de blé, colza, moutarde et fétuque, variant par leur C/S et dont les résultats ont été présentés aux chapitres 3 et 4. La modélisation a été effectuée en 4 étapes:

1. les cinétiques de minéralisation du carbone ont d'abord été simulées en utilisant les paramètres par défaut du modèle (résultats non montrés). L'objectif n'étant pas de tester le modèle, et les simulations n'étant pas très bonnes, nous avons choisi d'ajuster les paramètres pour décrire au mieux les cinétiques du carbone (étape 2)

2. les cinétiques de minéralisation de C ont donc été simulées en optimisant tous les paramètres (C/N de la biomasse et de la MO humifiée, k, λ, Y, h), en minimisant la somme des carrés des écarts (SCE) entre les valeurs observées et simulées pour le C (utilisation du solveur d'excel)

3. les cinétiques de minéralisation nette de N [(2)] ont ensuite été simulées en conservant les paramètres k, λ, Y, h obtenus pour C, et en optimisant les C/N de la biomasse microbienne et de la MO humifiée, en minimisant la somme des carrés des écarts pour N (SCN).

4. les cinétiques de minéralisation nette de S [(3)] ont été simulées en conservant les paramètres k, λ, Y, h obtenus pour C, et en optimisant les C/S de la biomasse microbienne et de la MO humifiée, en minimisant la somme des carrés des écarts pour S (SCS).

Nous faisons ainsi l'hypothèse que les paramètres décrivant l'évolution du carbone sont inchangés qu'il s'agisse de simuler l'azote ou le soufre, et que les seuls paramètres spécifiques sont les rapports C/N et C/S des compartiments organiques. Dans cette première tentative, les valeurs des paramètres obtenues par optimisation n'ont pas été bornées.

Tableau 1: Informations relatives aux données utilisées (rappel des caractéristiques des résidus végétaux et des conditions d'incubation).

Résidu	Type de Sol	T (°C)	MS apportée (mg kg^{-1}soil)	C total mg kg^{-1} Sol	N organique mg kg^{-1} Sol	C / N org.	S organique mg kg^{-1} Sol	C / S org.
Blé	Limon	20	3513	1500	16	93.8	2.3	658
Moutarde	Limon	20	3440	1500	177	8.5	10.4	145
Fétuque	Limon	20	3425	1500	92	16.0	4.6	325
Colza	Limon	20	3488	1500	49	31.0	2.5	605

(2) Il s'agit des courbes de minéralisation nette d'azote après soustraction des quantités N du témoin et quantités N au temps 0.
(3) comme pour N, il s'agit de la minéralisation nette après soustraction du témoin et du temps 0.

1.4.3. Résultats

Deux exemples de simulation sont présentés graphiquement avec le résidu de fétuque et avec le résidu de blé. En ce qui concerne le blé, les paramètres utilisés sont communs aux 4 niveaux d'apport de résidus (1.5, 2, 3 et 4 g C kg^{-1} sol). On observe (Figure 2) qu'il est possible d'ajuster correctement les cinétiques observées avec des cinétiques simulées par STICS, pour le carbone, l'azote et le soufre, en transposant le formalisme utilisé initialement pour l'azote, au soufre.

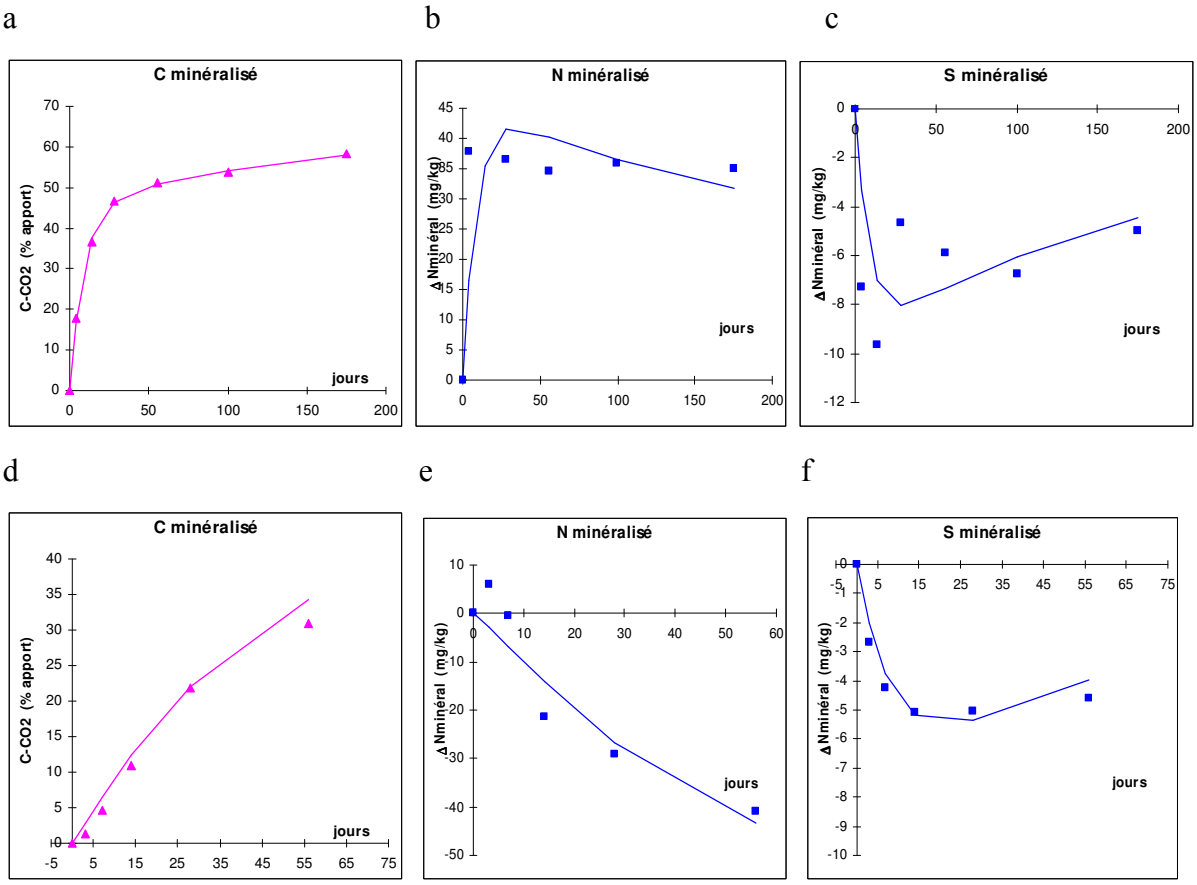


Figure 2 : Valeurs observées (*symboles*) de la minéralisation apparente C, N, et S des résidus de **Fétuque** (a, b, c) et **Blé (1.5 g C apporté)** (d, e, f) dans le sol en conditions optimales et valeurs prédites (*lignes*) par le modèle STICS avec des paramètres optimisés.

Les paramètres obtenus par ces ajustements sont présentés Tableau 2 pour les 4 types de résidus. Nous ne discuterons pas en détail les valeurs absolues de tous les paramètres, mais nous constatons que les ajustements obtenus pour S sont très bons avec des RMSE (S) meilleures que les RMSE (N) pour l'azote. Le modèle propose des valeurs de C/S de la biomasse microbienne dans la gamme 25 à 83, ce qui correspond aux valeurs proposées dans la littérature. Comme cela était fait pour N (Nicolardot et al., 2001), nous avons tenté des relations pour prédire les valeurs des paramètres *C/S* de la biomasse, *C/S* de la MO humifiée et *h* en fonction du C/S des résidus. C/S humus et *h* sont corrélés significativement avec le C/S des résidus (R^2= 0.89 et 0.80, respectivement, $p<0.05$), alors que la relation entre le C/S de la biomasse et le C/S des résidus n'est pas significative (R^2=0.65).

Tableau 2: Paramètres du module de décomposition du modèle STICS obtenus après ajustement sur les cinétiques de minéralisation de C, N et S et RMSE obtenues.

Résidu	C/N Biomasse microbienne	C/N MO humifiée	C/S Biomasse microbienne	C/S MO humifiée	k (day^{-1})	λ (day^{-1}	Y	h	RMSE(C) % C apporté	RMSE (N) mg N kg^{-1}	RMSE (S) mg S kg^{-1}
Blé	32.3	25.8	48.5	194.9	0.0247	0.1000	0.62	0.86	2.9	6.5	0.8
Moutarde	4.4	2.0	25.8	30.0	0.2241	0.0033	0.48	0.04	0.8	23.7	3.0
Fétuque	17.3	7.5	58.1	84.2	0.1130	0.0059	0.54	0.65	0.6	9.3	2.3
Colza	8.5	6.0	83.4	100.0	0.0900	0.0100	0.56	0.51	0.6	7.0	1.8

Cet exercice préliminaire de modélisation nous permet de confirmer l'hypothèse que la dynamique de S dans les sols au cours de la décomposition des résidus végétaux en situation non limitante en S, est fortement pilotée par la dynamique du carbone. Ceci montre aussi la possibilité d'adapter assez facilement des outils existants de modélisation pour simuler la dynamique de S dans les sols. Il faudrait bien sûr, comme cela a été fait pour l'azote, développer des incubations avec des mesures simultanées de C, N et S sur une large gamme de résidus végétaux afin de paramétrer un tel module.

2. Bilan du soufre dans les agrosystèmes : application à la gestion de la fertilisation soufrée

2.1. Proposition d'un bilan prévisionnel de soufre minéral

L'état des connaissances a montré que les risques de déficience en soufre sont de plus en plus fréquents dans beaucoup de situations agricoles. Par ailleurs, l'apport systématique de soufre n'est pas toujours rentable. Contrairement à l'élément azote, la pertinence d'un bilan entrées-sorties pour une gestion raisonnée de la fertilisation soufrée des cultures a, cependant, été peu étudiée. Depuis les années 70, en France, le principe de base du raisonnement de la fertilisation azotée des cultures annuelles de plein champ est la prévision, au niveau de la parcelle, de la fourniture d'azote minéral par le sol et du besoin de la culture ; la dose d'engrais est définie de manière à compléter strictement la fourniture pour satisfaire les besoins (Hébert, 1969 ; Rémy et Hébert, 1977 ; Machet et al., 1990).

Un bilan prévisionnel pourrait donc également être mis en œuvre pour calculer une dose d'engrais soufré. On estime, avant l'apport d'engrais, les différents termes d'un bilan du soufre minéral du sol sur une profondeur « z » considérée comme accessible aux racines de la culture :

	Etat final	-	Etat initial	=	Entrées	–	Sorties
Equation"1"	$\mathbf{S_f}$	**-**	$\mathbf{S_i}$	**=**	$\mathbf{(M_n + X + Re_a)}$	**–**	$\mathbf{(P_f - P_i + L)}$

S_f Quantité de soufre minéral du sol à la fermeture du bilan (récolte)
S_i Quantité du soufre minéral du sol à l'ouverture du bilan (fin d'hiver pour les cultures d'hiver, semis pour les cultures de printemps)
M_n Minéralisation nette du soufre par le sol estimée par la somme de plusieurs termes : minéralisation nette du soufre humifié du sol « M_h », minéralisation nette du soufre des résidus de récolte « M_r », minéralisation nette du soufre des produits organiques « M_a »
X Quantité de soufre minéral apporté par l'engrais
P_f Quantité totale de soufre absorbé par le peuplement végétal jusqu'à la fermeture du bilan
P_i Quantité de soufre contenu dans le peuplement végétal à l'ouverture du bilan
Re_a Quantité de soufre lié aux retombées atmosphériques
L Lixiviation du soufre sulfate au-delà de la profondeur « z », entre l'ouverture et la fermeture du bilan

On fait l'hypothèse dans la formulation de ce bilan de soufre que les pertes gazeuses en soufre dans les sols agricoles sont négligeables. Il en résulte que la quantité de soufre engrais à apporter à une culture correspond à :

Equation"2"	$X = (P_f - P_i) – (M_n + S_i + Re_a - L - S_f)$

$(P_f - P_i)$ représente les besoins du peuplement végétal ; $(M_n + S_i + Re_a – L - S_f)$, la fourniture nette en soufre.

2.2. Estimation des termes du bilan

2.2.1. Les besoins en soufre des plantes

Pour les plantes récoltées en grains, comme les céréales, les besoins en soufre (Pf) peuvent être déterminés en considérant un rendement objectif et une quantité de soufre par unité de production. Dans le cas du blé d'hiver, en retenant un besoin de 2.9 kg S par tonne de grains, un rendement objectif de 9 t/ha conduit à un besoin de la culture de 26 kg S/ha. Pour le colza, un rendement de 3.5 t/ha nécessite un besoin de 70 kg S/ha. Pour les plantes récoltées en phase végétative, comme la betterave à sucre, la pomme de terre, les légumes de plein champ, on considère un besoin forfaitaire en soufre. Des valeurs de besoins en soufre (Pf) pour différentes cultures ont été données dans le tableau 1 du chapitre 1.

Le soufre déjà absorbé (Pi) est à considérer pour les cultures implantées en automne, qui ont atteint un certain stade de développement à la date d'ouverture du bilan. Ce sont essentiellement les céréales d'hiver et le colza d'hiver. Pour le colza, on peut considérer que Pi atteint 8 à 12 kg S/ha (Merrien, 1987), pour les céréales d'hiver 3 à 5 kg S/ha.

2.2.2 Les fournitures du sol en soufre

Elles correspondent à la minéralisation de la matière organique humifiée et aux contributions des différentes sources organiques (résidus de la culture précédente, résidus de cultures intermédiaires, produits organiques exogènes divers).

Les résultats obtenus dans le chapitre 2, dans le cadre des conditions expérimentales mises en œuvre, permettent de prédire la minéralisation basale du S (Mh) par une équation prenant en compte la teneur en C organique et le pH. Alternativement il est possible d'utiliser l'azote organique, C et N étant parfaitement et linéairement corrélé dans notre jeu de données. Disposant d'une analyse de terre de la parcelle agricole, il est donc possible de déterminer la quantité de soufre minéralisé ; Cette quantité correspondant environ à la minéralisation annuelle de la situation considérée, elle devra être modulée par le temps d'occupation du sol par la culture : des cultures comme les céréales d'hiver et le colza bénéficieront de 50% de la minéralisation, alors qu'une culture comme la betterave bénéficiera de la presque totalité de cette minéralisation.

La contribution des résidus de culture (Mr) et des produits organiques (Ma) se traduit par une minéralisation nette ou de l'organisation nette du soufre dans le sol. Les résultats obtenus dans le chapitre 4 montrent que la décomposition des résidus de culture est fonction de la nature de ces résidus, particulièrement de leurs caractéristiques biochimiques et rapport C/S. une première estimation de la contribution des résidus de culture (Mr) peut être réalisée en utilisant la relation entre le rapport C/S du résidu et l'accumulation nette de S dans le sol (Figure 6b, chapitre 4).

2.2.3. Les stocks de soufre minéral à l'ouverture et à la fermeture du bilan

A l'ouverture du bilan (en fin d'hiver pour les cultures d'hiver et au semis pour les cultures de printemps), le soufre sous forme sulfate dans le sol (Si) pourrait être dosé dans les parcelles

où une mesure du reliquat d'azote minéral est réalisée. L'azote minéral et le soufre minéral seraient dosés dans le même extrait. En sols profonds, la mesure serait effectuée sur une profondeur de 90cm par horizon de 30cm d'épaisseur.

Le stock de soufre minéral à la fermeture du bilan (arrêt d'absorption par la culture) doit correspondre à une quantité minimale de S minéral restant dans le sol, en conditions optimales de croissance et d'absorption par la plante. Dans le bilan, ce stock (Sf) est estimé sur une profondeur de sol égale à celle du reliquat de S minéral à l'ouverture du bilan.

2.2.4. Les apports de soufre par retombées atmosphériques (Re_a)

Ces apports ont fortement diminué au cours des dernières décennies et on considère aujourd'hui, qu'ils atteignent 4 kg de S/ha (Vis et Goujard, 2005). Toutefois, il existe une forte hétérogénéité spatiale, de moins de 2 kg de S/ha à plus de 16 kg, liée à la présence d'activités émettrices de S dans l'atmosphère (raffineries, centrales thermiques, combustions diverses…).

2.2.5. Les pertes de soufre par lixiviation

Après la date d'ouverture du bilan, la pluviométrie peut entraîner des pertes de soufre par lixiviation (L) au-delà de la profondeur d'exploration racinaire de la culture. Ces pertes portent sur le compartiment sulfate du sol et dépendent de la pluie efficace (P – k*ETP) et du type de sol (nature de la couche arable et du sous-sol). Dans des sols sableux ou superficiels, les pertes peuvent être importantes.

2.3. Application à quelques situations culturales

On a tenté un bilan du soufre minéral appliqué à la parcelle pour 4 scénarios de culture. Pour les termes de fournitures du sol sur lesquels nous avons travaillé, l'application des résultats

des chapitres 2 et 4 conduit à proposer les valeurs présentées dans le tableau 3 suivant, prenant en compte les caractéristiques des situations simulées.

Tableau 3: Caractéristiques des situations simulées et valeurs prises par les termes de minéralisation du bilan (Mh et Mr)

Situation simulée	Type de sol	Minéralisation annuelle humus (kg S/ha)	Contribution minéralisation **Mh** (kg s/ha)	Précédent cultural	Quantité Résidu (t MS /ha)	C/S résidu	Contribution résidu **Mr** (kg S/ha)
Blé hiver	Limon Mons	24	**12**	Colza hiver	5	316	+ **1**
Colza hiver	Limon Mons	24	**12**	Blé hiver	9	486	**- 1**
Betterave à sucre	Limon Mons	24	**20**	Blé hiver	9	486	**- 1**
				Moutarde	3.6	60	+ **16**
Prairie temporaire	Limon Lusignan	33	**33**	Fétuque	1	155	+ **2**

La contribution de la minéralisation de l'humus à la nutrition soufrée de la culture est fonction du temps d'occupation du sol par la culture : le blé et le colza bénéficient de 50% de la minéralisation annuelle, la betterave à sucre 80% et la fétuque 100%. Pour les résidus de culture de colza et de blé, leur contribution est faible, alors que celle de la culture intermédiaire est beaucoup plus élevée. Cette contribution est en relation avec le rapport C/S utilisé dans ces simulations qui est celui mesuré pour les résidus étudiés dans nos incubations. Pour la fétuque, la faible contribution des résidus est liée à la faible quantité de matière sèche retournant au sol.

L'équation 2, mentionnée ci-dessus, est ensuite utilisée pour les 4 scénarios de culture. Les besoins des cultures sont issus des références compilées et présentées dans le chapitre 1 (paragraphe 2.1.4.), en tenant compte pour les cultures d'hiver d'un objectif de rendement et

de la quantité de soufre déjà absorbé par la culture à l'ouverture du bilan. Les stocks de soufre minéral à l'ouverture et fermeture du bilan sont estimés à partir des concentrations en sulfate mesurées dans les sols (chapitre 2), de leur profondeur et densité apparente. Enfin, les valeurs des retombées atmosphériques et de la lixiviation sont issues de la bibliographie.

Cas d'un blé d'hiver

Objectif de rendement : 9 t/ha ; sol de limon profond ; précédent cultural : colza d'hiver, pailles enfouies

$X = (P_f - P_i) – (M_h + M_r + S_i + Re_a - L - S_f)$

$X = (26 – 4) – (12 + 1 + 20 + 4 – 5 – 10)$

La dose d'engrais soufré à apporter sur le blé d'hiver est nulle.

Cas d'un colza d'hiver

Objectif de rendement : 3.5 t/ha ; sol de limon profond ; précédent cultural : blé d'hiver, pailles enfouies

$X = (P_f - P_i) – (M_h + M_r + S_i + Re_a - L - S_f)$

$X = (70 – 10) – (12 – 1 + 30 + 4 – 5 – 10)$

La dose d'engrais soufré à apporter sur le colza d'hiver est de 30 kg S/ha.

Cas d'une betterave à sucre

Sol de limon profond ; précédent cultural : blé d'hiver, pailles enfouies, avec implantation d'une culture intermédiaire de moutarde après le blé

$X = P_f – (M_h + M_r + M_{ci} + S_i + Re_a - L - S_f)$

$X = 37 – (20 – 1 + 16 + 30 + 4 – 5 – 10)$

On aboutit dans cette situation à un bilan de soufre excédentaire de 17 kg S/ha.

Cas d'une prairie temporaire

Prairie de fétuque avec une production annuelle de 14 t/ha de matière sèche (3 coupes) ; sol de limon de Lusignan

$X = P_f – (M_h + M_r + S_i + Re_a - L - S_f)$

$X = 40 – (33 + 2 + 5 + 4 – 2 – 5)$

X = 3 kg S/ha. Dans cette situation, le bilan de soufre est pratiquement équilibré.

L'utilisation d'un bilan de soufre minéral, avec une estimation des termes décrite ci-dessus, permet de discriminer les 4 scénarios de culture. Selon les situations concernées, le poids des différents termes du bilan est différent : dans le cas du colza, les besoins sont importants comparativement aux fournitures du sol, dans le cas de la betterave à sucre succédant à une interculture avec implantation d'une moutarde, la minéralisation de l'humus et des résidus de culture compensent les besoins en soufre de la culture.

Les résultats obtenus dans ce mémoire permettent de renseigner et de paramétrer un outil de diagnostic, pour juger à l'échelle d'une parcelle et d'un cycle cultural, si la situation présente ou non un risque de déficience en soufre et de disposer d'un outil opérationnel de calcul de la fertilisation soufrée pour une culture.

L'application du bilan de S minéral à la gestion de la fertilisation soufrée des cultures me paraît une piste très prometteuse, à approfondir.

Bibliographie

Alexander M (1977) Introduction to Soil Microbiology. 2nd ed. 480 pages

Andreae MO, Jaeschke WA (1992) Exchange of sulphur between biosphere and atmosphere over temperate and tropical regions. In: Sulphur Cycling on the Continents: Wetlands, Terrestrial Ecosystems and Associated Water Bodies, SCOPE 48, 27-61

Barcelona MJ (1984) TOC determinations in ground water. Ground water 22,18-24.

Barrow NJ (1960) A comparison of mineralization of nitrogen and of sulfur from decomposing organic materials. Aust J Agric Res 11:960-969.

Blake-Kalff MMA, Hawkesford MJ, Zhao FJ, McGrath SP (2000) Diagnosing sulfur deficiency in field-grown oilseed rape (*Brassica napus* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.). Plant Soil 225: 95-107

Bouthier A, Bonnifet JP, Drieu Y, Seguin A, Gatay D (2007) Fertilisation soufrée des céréales : Mieux prévoir le risque de déficience. Perspectives Agricoles 330: 54-59

Brisson N, Mary B, Ripoche D, Jeuffroy M-H, Ruget F, Nicoullaud B, Gate P, Devienne-Barret F, Antonioletti R, Dürr C, , Richard G, Beaudoin N, Recous S, Tayot X, Plenet D, Cellier P, Machet JM, Meynard JM, Delécolle R (1998) STICS : a generic model for the simulation of crops and their water and nitrogen balance. I- Theory and parametrization applied to wheat and corn. Agronomie 18: 311-346

Brookes PC, Landman A, Pruden G, Jenkinson DS (1985) Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. Soil Biol Biochem 17: 837-842

Castellano SD, Dick RP (1990) Cropping and sulfur fertilization influence on sulfur transformations in soil. Soil Sci Soc Am J 54: 114-121

Castellano SD, Dick RP (1991) Cropping and sulphur fertilization influence on sulphur transformations in soil. Soil Sci Soc Am J 55:114-121

Chapman SJ (1987) Microbial sulphur in some Scottish soils. Soil Biol Biochem 19: 301-305

Chapman SJ (1997) Barly straw decomposition and S immobilization. Soil Biol Biochem 29: 109-114

Chapman SJ (1997) Carbon substrate mineralization and sulphur limitation. Soil Biol Biochem 29: 115-122

Chaudhry IA, Cornfield AH (1967) Effects of moisture content during incubation of soil treated with organic materials on changes in sulphate and sulphide levels. J Sci Food Agric 18: 38-40

Chaussod R, Nicolardot B, Catroux G (1986) Mesure en routine de la biomasse microbienne des sols par la méthode de fumigation au chloroforme. Science du Sol 2, 201-211

Cheshire MV, Bedrock CN, Williams BL, Chapman SJ, Solntseva I, Thomsen I (1999) The immobilization of nitrogen by straw decomposing in soil. Eur J Soil Sci 50: 329-341

Coppens F (2005) Water, carbon and nitrogen dynamics in soil: influence of crop residue location and quality. Doctorat d'AgroParisTech et de l'Université Catholique de Leuven (KU Leuven) n° 648. 203 pages.

Diot F (1991) Contribution à l'étude de la dynamique du soufre en sols cultivés lorrains. Thèse Institut National Polytechnique de Lorraine, 149 pages

Diot F, Vong PC, Frossard E, Jacquin F (1988) Dynamique du soufre en sols cultivés lorrains : influence des conditions pédoclimatiques et de fertilisation azotée. Comifer, 3ième Forum National de la Fertilisation Raisonnée, Nancy, 59-62

Eriksen J (2005) Gross sulphur mineralisation-immobilisation turnover in soil amended with plant residues. Soil Biol Bioche 37: 2216-2224

Eriksen J, Mortensen JV, Nielsen JD, Nielsen NE (1995) Sulphur mineralisation in five Danish soils as measured by plant uptake in a pot experiment. Agric Ecosyst Environ 56:43-51

Eriksen J, Murphy MD, Schnug E (1998) The Soil Sulphur Cycle. In: Sulphur in Agroecosystems. E Schnug (Ed) , Kluwer, Dordrectht, The Netherlands 39-73

Fog K (1988) The effect of added nitrogen on the rate of decomposition of organic matter. Biol Rev 63: 443-462

Freney JR (1986) Forms and reactions of organic sulfur compounds in soils. *In* M. A. Tabatabai(Ed.): Sulfur in Agriculture. Agron. Monogr. 27. ASA, Madison, WI, pp. 207-232

Freney JR (1986) Forms and reactions of the organis sulphur compounds in soils. In: Sulfur in Agriculture 207-232

Freney JR, Melville GE, Williams CH (1971) Organic sulphur fractions labelled by addition of ^{35}S-sulphate to soil. Soil Biol Biochem 3: 133-141

Freney JR, Williams CH (1983) The sulphur cycle in soil. *In* The Global Biogeochemical Sulphur Cycle, SCOPE 19 John Wiley & Sons (Eds) pp. 129-201

Ganeshamurthy AN, Nielsen NE (1990) Arylsulfatase and the biochemical mineralization of soil organic sulphur. Soil Biol Biochem 22:1163-1165.

Ghani A, McLaren RG, Swift RS (1991) Sulphur mineralization in some New Zealand soils. Biol Fertil Soils 11:68-74

Ghani A, McLaren RG, Swift RS (1992) Sulphur mineralisation and transformations in soils as influenced by additions of carbon, nitrogen and sulphur. Soil Biol Biochem 24: 331-341

Giacomini SJ, Recous S, Mary B, Aita C (2007) Simulating the effects of nitrogen availability, straw particle size and localization in the soil on the C and N mineralization. Plant Soil: 289-301

Giovanelli J (1990) Regulation of cysteine and methionine biosynthesis. In: Sulphur Nutrition and Sulphur Assimilation in Higher Plants. Rennenberg H, Brunold C, De Kok LJ, Stulen I (Eds) SPB Acad. Publ., The Hague, 33

Harward ME, Reisenauer HM (1966) Reactions and movement of inorganic soil sulfur. Soil Science 101: 326-335

Hébert J (1969) La fumure azotée du blé tendre d'hiver. Bulletin Technique d'Information 244: 755-766

Henriksen TM, Breland TA (1999) Nitrogen availability effects on carbon mineralization, fungal and bacterial growth, and enzyme activities during decomposition of wheat straw in soil. Soil Biol Biochem 31:1121-1134

Janzen HH, Ellert BH (1998) Sulfur dynamics in cultivated, temperate agroecosystems. In Sulfur in the Environment, Maynard DG (Ed), Marcel Dekker, Inc., New York, pp.11-43

Jensen LS, Salo T, Palmason F, Breland TA, Henriksen TM, Stenberg B, Pedersen A, Lundstrom C, Esala M (2005) Influence of biochemical quality on C and N mineralisation from a broad variety of plant materials in soil. Plant Soil 273: 307-326

Kamphake LJ, Hannah SA, Cohen JM (1967) Automated analysis for nitrate by hydrazine reduction. Wat Res 1: 205–216

Kertesz MA (1999) Riding the sulphur cycle – metabolism of sulphonates and sulphate esters in Gram-negative bacteria. FEMS Microbiol Rev 24; 135-175

Kirchmann H, Pichlmayer F, Gerabek MH (1996) Sulfur balances and sulfur^{34} abundance in a long term fertiliser experiment. Soil Science Soc Am J 59: 174-178

Klose S, Tabatabai MA (1999) Arylsulphatase activity of microbial biomass in soils. Soil Sci Soc Am J 63: 569-574

Knights JS, Zhao FJ, McGrath SP, Magan N (2001) Long-term effects of land use and fertilisers treatments on sulphur transformations in soils from the Broadbalk experiment. Soil Biol Biochem 33: 1797-1804

Krom MD (1980) Spectrophotometric determination of ammonia: a study of a modified Berthelot reaction using salicylate and dichloroisocyanurate. Analyst 105:305-316

Kumar K, Goh KM (2000) Crop residues and management practics: effects on soil quality, soil nitrogen dynamics, crop yield, and nitrogen recovery. Adv. Agron 68: 197-319

Li S, Lin B, Zhou W (2001) Soil organic sulfur mineralization in the presence of growing plants under aerobic or watterlogged conditions. Soil Biol Biochem 33: 721-727

Lineres M, Djakovitch JL (1993) Caractérisation de la stabilité biologique des appports organiques par l'analyse biochimique. In: Decroux J, Ignazi JC (eds) Matières organiques et agricultures. Gemas-Comifer, Paris, 59-68.

Machet JM, Dubrulle P, Louis P (1990) AZOBIL : a computer program for fertilizer N recommendations based on a predictive balance sheet method. Proc 1st Congress of European Society of Agronomy

Mary B, Recous S, Darwis D, Robin D (1996) Interactions between decomposition of plant residues and nitrogen cycling in soil. Plant and Soil 181: 71-82.

Maynard DG, Steward JW, Bettany JR (1985) The effects of plants on soil sulfur transformations. Soil Biol Biochem 17:127-143

Maynard DG, Stewart JWB, Bettany JR (1983) Sulphur and nitrogen mineralisation in soils compared using two incubation techniques. Soil Biol Biochem 15: 251-256

McGill WB, Cole CV (1981) Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. Geoderma 26:267-286

McGrath SP, Zhao FJ, Blake-Kalff MMA (2002) History and outlook for sulphur fertilisers in Europe. Proceedings No 497, International Fertiliser Society, York, UK

Merrien A (1987) La fertilisation soufrée du colza : un oubli qui peut coûter cher ! Perspectives Agricoles 115: 201-203

Muller JC, Ballif JL (1991) Comportement dans le sol des formes minérales du soufre et de l'azote suivant les systèmes de culture. Actes des 3ièmes journées de l'Analyse de terre, Blois 2-21

Murphy MD, Coulter BS, Noonan DG, Connolly J (2002) The effect of sulphur fertilisation on grass growth and animal performance. Irish journal of Agricultural and Food Research 41: 1-15

Nicolardot B, Recous S, Mary B (2001) Simulation of C and N mineralisation during crop residue decomposition: A simple dynamic model based on the C:N ratio of the residues. Plant Soil 228: 83-103

Nziguheba G, Smolders E, Merckx R (2005) Sulphur immobilization and availability in soils assessed using isotope dilution. Soil Biol Biochem 37:635-644

Nziguheba G, Smolders E, Merckx R (2006) Mineralization of sulfur from organic residues assessed by inverse isotope dilution. Soil Biol Biochem 38: 2278-2284

O'Donnell AG, Wu J, Syers JK (1994) Sulphate-S amendments in soil and their effects on the transformation of soil sulphur. Soil Biol Biochem 26: 1507-1514

Pamidi J, Goh KM, McLaren RG (2001) Comparison of three different methods of determining soil sulphur mineralization in relation to plant sulphur availability in soils. Biol Fertil Soils 34: 131-139

Parton WWJ, Stewart JWB, Cole CV (1988) Dynamics of C, N, P and S in Grassland Soils. Biogeochemistry 5: 109-131

Pirela HJ, Tabatabai MA (1988) Sulfur mineralization rates and potentials of soil. Biol Fertil Soils 6: 26-32

Recous S, Robin D, Darwis D, Mary B (1995) Soil inorganic N availability: effect on maize residue decomposition. Soil Biol Biochem 27: 1529-1538.

Reddy KS, Singh M, Swarup A, Rao AS, Singh KN (2002) Sulfur mineralization in two soils amended with organic manures, crop residues, and green manures. J Plant Nutr Soil Sci 165:167-171

Rémy JC, Hébert J (1977) Le devenir des engrais azotés dans le sol. CR Acad Agric Fr 63: 700-710

Riffaldi R, Saviozzi A, Cardelli R, Cipolli S, Levi-Minzi R (2006) Sulphur mineralization kinetics as influenced by soil properties. Biol Fertil Soils 43:209-214

Saggar S, Bettany JR, Stewart JWB (1981) Measurement of microbial sulphur in soil. Soil Biol Biochem 13: 493-498

Saggar S, Hedley MJ, Phimsarn S (1998) Dynamics of sulfur transformations in grazed pastures. In: Sulfur in the Environment, DG Maynard (ed), 45-94

Scherer HW (2001) Sulphur in crop production – Invited paper. Eur J Agron 14: 81-111

Simon-Sylvestre G (1969) Premiers résultats d'une enquête sur le soufre total des sols cultivés français. Ann Agro 20 (6) 609-625

Stevenson FJ (1986) Cycles of soil: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients. John Wiley & Sons (Eds) 285-320

Stewart BA, Porter LK, Viets FG (1966) Sulfur requirements for decomposition of cellulose and glucose in soil. Soil Sci Sco Amer Proc 30: 453-456

Studer R (1984) Le soufre, élément fertilisant secondaire. Techniques Agricoles 1270 : 1-6

Tabatabai MA (1984) Importance of sulphur in crop production. Biogeochemistry, 1:45-62

Tabatabai MA, Al-khafaji AA (1980) Comparison of nitrogen and sulphur mineralization in soils. Soil Sci SocAm J 44:1000-1006

Tabatabai MA, Bremer (1970) Analyzing for sulfur. Agronomy 62: 805-809.

Tabatabai MA, Chae YM (1991) Mineralization of sulfur in soils amended with organic wastes. J Environ Qual 20: 684-690

Taureau JC, Thévenet G, Bordeaux JL, De Froberville (1987) Réponse des cultures à la fertilisation soufrée. Une méthode d'approche : le cas du blé en terres de Groies, étudié en 1986. Perspectives Agricoles 111: 22-47

Thévenet G, Taureau JC (1987) Le soufre et les céréales : l'alimentation soufrée du blé tendre d'hiver. Perspectives Agricoles 115: 193-198

Trinsoutrot I, Recous S, Bentz B, Linères M, Cheneby D, Nicolardot B (2000) Relationships between biochemical quality of crop residues and C and N mineralisation kinetics under non-limiting N conditions. Soil Science Society of America Journal 64, 918-926

Usman M (2008) Effect of incorporation of wheat residues in soil under sulfur limiting conditions on the size and activity of bacterial community involved in the mineralization of organic sulfur. Mémoire de Master 2, Spécialité "Environnement continental et hydro sciences", Parcours "Fonctionnement physique, chimique et biologique de la Biosphère continentale" Université PM Curie, AgroParisTech. 30 pages.

Van Soest PJ (1963) Use of detergent in the analysis of fibrous feeds. I.Preparation of fiber residues of low N content. Journal of the Association of Official Agricultural Chemists 46, 825-835.

Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS (1987) An extraction method for measuring soil microbial C. Soil Biol Biochem 19: 703-707

Verlinden G (2002) Sulphur dynamics in Belgian agricultural soils. Dissertationes de Agricultura, 506, Katholieke Universiteit Leuven, 181 Pages

Vis H, Goujard O (2005) Comprendre la place du soufre dans la fertilisation. In: Fertilisation et Société, Thévenet G et Faedy L (Eds), colloque Comifer-Gemas 117-127

Vong PC, Piutti S, Benizri E, Slezack-Deschaumes S, Robin C, Guckert A (2007) Water-soluble carbon in roots of rape and barley: impacts on labile soil organic carbon, arylsulphatase activity and sulphur mineralization. Plant Soil 294: 19-29

Walker DR, Doornenbal G (1972) Soil sulfate. 2. As an index of the sulfur available to legumes. Can J Soil Sci 52: 261-266

Walker K, Dawson C (2002) Sulphur fertiliser recommendations in Europe. Proceedings N° 504, International Fertiliser Society, York, UK, 20 pages

Williams PH, Haynes RJ (1992) Balance sheet of phosphorus, sulphur and potassium in a long term grazed pasture supplied with superphosphate. Fertilizer Res 31: 51-60

Wu J, O'Donnell AG, He ZL, Syers JK (1994) Fumigation-extraction method for the measurement of soil microbial biomass-S. Soil Biol Biochem 26: 117-125

Wu J, O'Donnell AG, Syers JK (1993) Microbial growth and sulphur immobilization following the incorporation of plant residues into soil. Soil Biol Biochem 25: 1567-1573

Wu J, O'Donnell AG, Syers JK (1995) Influences of glucose, nitrogen and plant residues on the immobilization of sulphate-S in soil. Soil Biol Biochem 27: 1363-1370

Zhao FJ, Evans EJ, Bilsborrow PE, Syers JK (1994) Influence of nitrogen and sulphur on the glucosinolate profile of rapeseed (*Brassica napus* L.). Journal of the Science of Food and Agriculture 64: 295-304

Zhao FJ, McGrath SP, Blake-Kalff MMA, Link A, Tucker M (2002) Crop responses to sulphur fertilisation in Europe. Proceeedings N° 504, International Fertiliser Society, York, UK, 27pp

Zhao FJ, Salmon SE, Withers PJA, Evans EJ, Monaghan JM, Shewry PR, McGrath SP (1999b) Responses of breadmaking quality to sulphur in three wheat varieties. Journal of the Science of Food and Agriculture 79: 1865-1874

Zhao FJ, Salmon SE, Withers PJA, Monaghan JM, Evans EJ, Shewry PR, McGrath SP (1999a) Variation in the breadmaking quality and rheological properties of wheat in relation to sulphur nutrition under field conditions. Journal of Cereal Science 30: 19-31

Zhao FJ, Wu J, McGrath SP (1996) Soil organic sulphur and its turnover. In: Humic Substances in the Terrestrial Ecosystems, Elsevier Science (Eds) 467-506

Zhou W, Li ST, Wang H, He P, Lin B (1999) Mineralization of organic sulfur and its importance as a resevoir of plant available sulfur in upland soils of north China. Biol Fertil Soils 30:245-250