



**HAL**  
open science

# Importance relative des métabolismes intracellulaires et extracellulaires dans les processus de minéralisation du carbone et de l'azote face à un gradient d'aridité

Audrey Lallement

## ► To cite this version:

Audrey Lallement. Importance relative des métabolismes intracellulaires et extracellulaires dans les processus de minéralisation du carbone et de l'azote face à un gradient d'aridité. [Stage] France. Université Blaise Pascal (Clermont Ferrand 2) (UBP), FRA. 2014, 66 p. hal-02794805

**HAL Id: hal-02794805**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02794805>**

Submitted on 5 Jun 2020

**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.

# MASTER II Biologie et Environnement Spécialité : MGEB

---

RAPPORT DE STAGE PRESENTE PAR : AUDREY LALLEMENT



**Importance relative des métabolismes intracellulaires et  
extracellulaires dans les processus de minéralisation du carbone  
et de l'azote face à un gradient d'aridité**

---

**RESPONSABLE DU STAGE :**

SÉBASTIEN FONTAINE

**CO-ENCADRE PAR :**

BENOIT KÉRAVAL

**STRUCTURE D'ACCUEIL :**

INRA UNITE DE RECHERCHE  
SUR L'ECOSYSTEME PRAIRIAL  
5 CHEMIN DE BEAULIEU  
63039 CLERMONT-FD



SEPTEMBRE 2014



## RESUME

---

Les sols sont les principaux réservoirs de carbone et d'azote, atomes essentielles à la vie. Les cycles biogéochimiques formés sont en partie régulés par les microorganismes. Avec les changements climatiques prévus, l'augmentation de la température et le changement des précipitations, la désertification des terres va s'agrandir augmentant le biome aride et entraînant une mortalité chez les microorganismes. V. Maire et collaborateur proposent en 2013 l'existence d'un métabolisme oxydatif extracellulaire, l'EXOMET. Ils font l'hypothèse qu'à la mort des cellules, les enzymes adsorbées maintiennent leurs activités permettant la reconstitution des métabolismes par ce pool enzymatique. Afin de vérifier si l'aridité augmente la présence de l'EXOMET dans des sols naturellement soumis à un gradient d'aridité, 6 sols du Botswana, 12 sols d'Espagne et 5 sols de France sont incubés en microcosmes suite à une irradiation aux rayons gamma ou sans traitement préalable. Pour chaque sol, l'émission de CO<sub>2</sub>, la consommation d'O<sub>2</sub>, le carbone organique dissous et inorganique, l'azote organique dissous et l'azote minéral sont analysés. Seule la minéralisation du carbone peut être corrélée avec l'indice d'aridité, la contribution de l'EXOMET augmente dans les climats plus humides mais elle peut également être influencée à d'autres facteurs comme la composition des sols et le pH.

**Mots clés :** Cycles biogéochimiques, métabolismes oxydatifs extracellulaires, aridité.

## SUMMARY

---

Soils are the main source of carbon and nitrogen, essential atoms for life. The formed biogeochemical cycles are partially regulated by microorganisms. With the climate change, in particular temperature increasing and precipitation changing, the desertification of land will improve and the arid biome will expand leading to microorganism mortality. V. Maire and collaborator (2013) propose the existence of an extracellular oxidative metabolism (EXOMET). They have hypotheses that, further death microorganisms, stabilized enzymes in soil maintain their activities allowing the reconstruction of metabolism by the enzymatic pool. In order to check if aridity improves EXOMET in soil naturally exposed to aridity gradient, 6 soil of Botswana, 12 soils of Spain and 5 soils of France were incubate with gamma irradiation or without preliminary treatments. For each soil, CO<sub>2</sub> emission, O<sub>2</sub> consummation, dissolved organic carbon and inorganic one, dissolved organic nitrogen and mineral one was carrying out. Only carbon mineralization correlate with aridity gradient, the EXOMET contribution increases with wetter climates but this contribution can also be influence by other factors like soil composition and pH.

**Keywords:** Biogeochemical cycles, extracellular oxidative metabolism, aridity.



## LISTE DES ABREVIATIONS

---

**ADN** : Acide DésoxyriboNucléique

**ARN** : Acide RiboNucléique

**ATP** : Adénosine TriPhosphate

**BM** : Biomasse Microbienne

**COD** : Carbone Organique Dissous

**EXOMET** : EXtracellular Oxydative METabolism

**FADH<sub>2</sub>** : Flavine Adénine Dinucléotide

**FAO** : Food and Agriculture Organization

**GIEC** : Groupe d'Experts Intergouvernemental sur l'évolution du Climat

**IC** : Carbone Inorganique

**INRA** : Institut National de la Recherche Agronomique

**NADH** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide

**NOD** : Azote Organique Dissous



# SOMMAIRE

---

<b><u>INTRODUCTION</u></b> .....	p 1
<b><u>BIBLIOGRAPHIE</u></b> .....	p 3
<b><u>1 – Importance des métabolismes microbiens intracellulaires et extracellulaires dans les cycles biogéochimiques du sol</u></b> .....	p 3
1.1 – Les métabolismes microbiens dans le cycle du carbone .....	p 3
1.2 – Les métabolismes microbiens dans le cycle de l’azote .....	p 5
1.3 – Les métabolismes extracellulaires oxydatifs .....	p 6
<b><u>2 – L’intensification des événements arides et leurs impacts sur les environnements</u></b> .....	p 7
2.1 – Sur l’environnement abiotique du sol .....	p 7
2.2 – Sur l’environnement biotique du sol .....	p 8
<b><u>3 – Objectifs de stage</u></b> .....	p 9
<b><u>MATERIEL ET METHODE</u></b> .....	p 11
<b><u>1 – Sites d’études et échantillonnages</u></b> .....	p 11
<b><u>2 – Incubation des sols en microcosmes</u></b> .....	p 11
<b><u>3 – Mesure de la teneur en O<sub>2</sub>, des émissions de CO<sub>2</sub> et de la signature isotopique du carbone</u></b> .....	p 12
<b><u>4 – Analyses de la matière organique et minérale des sols</u></b> .....	p 12
<b><u>5 – Quantification de la biomasse microbienne dans les sols</u></b> .....	p 13
<b><u>6 – Stérilité des sols irradiés</u></b> .....	p 13
<b><u>RESULTATS</u></b> .....	p 14
<b><u>1 – Modélisation mathématique des flux de matière de carbone dans le sol par les métabolismes intracellulaires et extracellulaires</u></b> .....	p 14
<b><u>2 – Les courbes de cinétique des différents microcosmes</u></b> .....	p 15
2.1 – Les microcosmes des sols du Botswana .....	p 15
2.2 – Les microcosmes des sols d’Espagne .....	p 16
2.3 – Les microcosmes des sols de France .....	p 16
<b><u>3 – La contribution des métabolismes oxydatifs extracellulaires liées aux minéralisations</u></b> .....	p 18
3.1 – La contribution des métabolismes oxydatifs extracellulaires des émissions de CO <sub>2</sub> en fonction de l’indice d’aridité .....	p 18
3.2 – La contribution des métabolismes oxydatifs extracellulaires à la consommation en O <sub>2</sub> en fonction de l’indice d’aridité .....	p 18



<u>3.3 – La contribution des métabolismes oxydatifs extracellulaires à la formation d’azote minéral en fonction de l’indice d’aridité</u> .....	p 19
<u>3.4 – La consommation du carbone organique dissous en fonction de l’indice d’aridité</u> .....	p 19
<b><u>4 – La contribution des métabolismes oxydatifs extracellulaires influencée par d’autres paramètres</u></b> .....	p 20
<u>4.1 – L’influence du pH sur les métabolismes oxydatifs extracellulaires</u> .....	p 20
<u>4.2 – L’influence de la composition du sol sur les métabolismes oxydatifs extracellulaires</u> .....	p 20
<b><u>DISCUSSION</u></b> .....	p 22
<b><u>1 – Le modèle des flux de matière de carbone dans le sol impliqués dans les métabolismes intracellulaires et extracellulaires</u></b> .....	p 22
<b><u>2 – L’analyse des courbes de cinétique</u></b> .....	p 22
<b><u>3 – La contribution des métabolismes oxydatifs extracellulaires liées aux minéralisations</u></b> .....	p 23
<b><u>4 – La contribution des métabolismes oxydatifs extracellulaires influencée par d’autres paramètres</u></b> .....	p 24
<b><u>CONCLUSION GENERALE, PERSPECTIVES</u></b> .....	p 25



## INTRODUCTION

---

L'hydrogène, le carbone, l'azote, l'oxygène, le soufre et le phosphore sont les éléments les plus prépondérants sur Terre. Il y a 4,5 milliards d'années, quand la Terre émergea, les facteurs chimiques et physiques étaient exclusivement responsables de la distribution de ces éléments sur notre planète. Un milliard d'années plus tard la vie apparut sur Terre. Au fur et à mesure de son évolution, les facteurs biologiques ont eu une incidence de plus en plus importante dans la distribution des éléments et des composés dans lesquels ils sont incorporés. Ces éléments se retrouvent sous différentes formes, organiques et inorganiques, et sous les trois différents états (solides, liquides et gazeux) dans les environnements. Les flux de matières caractérisant le transport et la transformation cyclique de ces éléments entre les grands réservoirs (hydrosphère, géosphère et lithosphère) déterminent les cycles biogéochimiques.

Cette étude est focalisée sur le carbone (C) et l'azote (N). L'atome de carbone, d'une grande plasticité, forme le squelette des molécules organiques et sous ses formes inorganiques (CO<sub>2</sub> et CH<sub>4</sub>) il participe activement au processus de réchauffement climatique. L'azote (N), quant à lui, est un nutriment indispensable au développement des organismes vivants, qu'ils soient eucaryotes, bactériens ou archéens.

Parmi les différents réservoirs de notre planète, le sol est la principale réserve de carbone ( $1\,500 \cdot 10^{12}$  kg) et d'azote ( $133\text{-}140 \cdot 10^{12}$  kg) sur Terre et est le siège de la minéralisation de nombreuses molécules organiques [R. Amundson ; K. Butterbach-Bahl et P. Gundersen]. Dans cet écosystème, les microorganismes sont les principaux acteurs de la minéralisation du carbone et de l'azote. J. W. Raich et C. S. Potter ont estimé qu'un flux global de  $77 \cdot 10^{15}$  g de C était émis du sol vers l'atmosphère tous les ans par les métabolismes respiratoires. W. H. Schlesinger et J. A. Andrews ajoutent que 30 à 50% de cette respiration est due aux activités racinaires et 50 à 70% aux activités microbiennes. Les microorganismes participeraient donc à un flux global de carbone dans les sols de l'ordre de  $3,85 \cdot 10^{14}$  à  $5,39 \cdot 10^{14}$  g/an. Selon R. D. Bardgell, les acteurs de la minéralisation de l'azote sont les microorganismes, L. E. Rustad et collaborateurs trouvent que sur 12 sites, la moyenne de cette minéralisation est de  $1,05$  g d'azote/m<sup>2</sup>/an.

Depuis l'aire préindustrielle (1750 ans après JC), ces flux sont perturbés par les différentes activités anthropiques. L'utilisation d'engrais azotés dans l'agriculture en est un exemple. Le carbone fossilisé et stocké au sein du réservoir terrestre en est un autre car une



fois remobilisé par l'industrie pétrolière et agricole, il réintègre les cycles biogéochimiques et participe à l'accumulation de dioxyde de carbone dans l'atmosphère et par conséquent au processus de réchauffement climatique. Le groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (le GIEC) prévoit d'ailleurs une augmentation moyenne de la température de l'air de 1,4 à 5,6°C durant la période allant de 1990 à 2100. Ce réchauffement climatique mondial va avoir des effets directs sur certaines variables climatiques comme les précipitations et l'évaporation et par conséquent sur l'aridité des écosystèmes [J. T. Houghton *et al.*]. Les terres arides représentent le biome le plus largement répandu sur Terre ; elles couvrent à l'heure actuelle 41% des terres de la planète et comprennent 38% de la population humaine globale. Ce réchauffement climatique va conduire à une extension de ce biome et augmenter les procédés de dégradation et de désertification des terres [M. Deldado-Baquerizo *et al.*].

L'élévation de la température, la modification des teneurs en eau des sols ainsi que l'augmentation et l'intensification des événements de sécheresse et de ré-humidification des sols vont largement affecter la structure des communautés microbiennes du sol et par conséquent les flux de matières auxquelles ces communautés sont associées [P. Davet]. Ils vont notamment induire une forte mortalité des microorganismes et, selon nous, augmenter le relargage d'enzymes intracellulaires dans le sol, donc accroître le pool d'enzymes intracellulaires stabilisées dans l'environnement et ainsi favoriser l'expression des métabolismes extracellulaires oxydatifs (Exomet). Afin de tester cette hypothèse, nous avons quantifié l'importance relative des métabolismes intracellulaires et extracellulaires dans la minéralisation du carbone et de l'azote dans des sols d'Afrique (Botswana), d'Espagne et de France ayant été soumis naturellement à différentes conditions d'aridité.



## BIBLIOGRAPHIE

---

### 1 – Importance des métabolismes microbiens intracellulaires et extracellulaires dans les cycles biogéochimiques du sol

Les cycles biogéochimiques du carbone et de l'azote sont reliés entre eux dans les écosystèmes terrestres par la production primaire, la respiration et la décomposition. Les microorganismes interviennent dans ces trois processus et jouent, par conséquent, un rôle fondamental dans la distribution de ces atomes à l'échelle terrestre. Au sein du cycle du carbone, ils vont participer à la décomposition et à la minéralisation des composés organiques principalement *via* le métabolisme respiratoire. Au sein du cycle de l'azote, ils vont intervenir dans la fixation de cet atome, l'ammonification, la nitrification et la dénitrification. Ces métabolismes font intervenir de nombreuses enzymes (catalyseurs biologiques permettant la diminution de l'énergie d'activation des réactions de catalyse) et de nombreux cofacteurs (substances chimiques non protéiques nécessaires à l'enzyme pour activer la catalyse biochimique). Certaines de ces enzymes peuvent être excrétées par les microorganismes dans le milieu extracellulaire afin de dépolymériser les polymères de grande taille et ainsi de faciliter l'intégration de substrats de plus petite taille par les microorganismes. Les autres enzymes sont intracellulaires et participent à l'anabolisme et au catabolisme énergétique des cellules microbiennes.

#### 1.1 – Les métabolismes microbiens dans le cycle du carbone

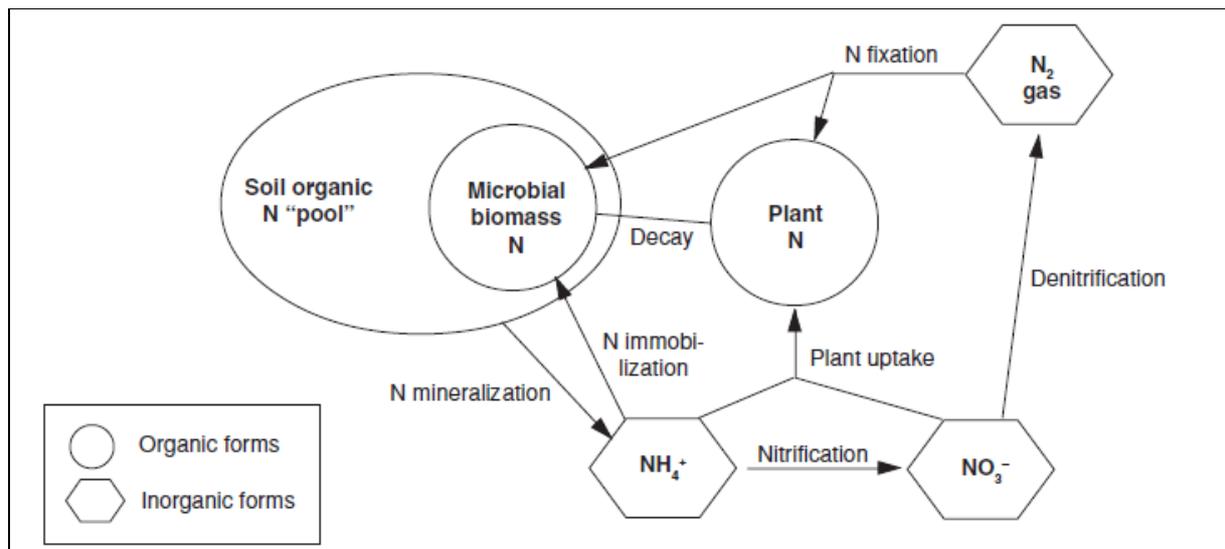
Sur Terre, le carbone existe sous des formes réduites, comme le méthane et la matière organique, et sous des formes plus oxydées comme le monoxyde (CO) et le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>). Les donneurs d'électrons (comme par exemple l'hydrogène qui est un puissant réducteur) et les accepteurs d'électrons (tel que le dioxygène dans la respiration aérobie) influencent le déroulement des réactions biologiques et chimiques impliquant le carbone. Bien que le carbone passe de façon continue d'une forme à l'autre dans le cycle biogéochimique, la fixation de cet atome peut être considérée comme le point de départ de ce cycle. Cette conservation du CO<sub>2</sub> en matière organique à l'échelle de la biosphère terrestre est principalement réalisée par les plantes, cependant à l'échelle globale, au moins la moitié du carbone sur Terre est fixée par les microorganismes [Geider *et al.*], particulièrement par les procaryotes et eucaryotes photosynthétiques marins (tel que les cyanobactéries *Prochlorococcus* et *Synechococcus*, et les diatomées). Le carbone ainsi fixé rentre dans un pool commun de matière organique qui peut ensuite être réoxydé en CO<sub>2</sub> par la respiration



aérobie ou anaérobie et les fermentations. Par ailleurs, le carbone inorganique ( $\text{CO}_2$ ) et organique peut être réduit, *via* l'anaérobiose, en méthane par les archées méthanogènes (phylum des *Euryarcheota*).

Les principaux substrats organiques complexes (tel que la cellulose, l'hémicellulose, la lignine, la chitine, les protéines, etc.) vont être oxydés afin de participer au processus de catabolisme énergétique. Certaines de ces molécules oxydées vont, elles, participer à l'anabolisme des cellules. La dégradation de ces substrats suit des lois d'équilibre stœchiométrique établies entre le substrat et la biomasse microbienne [Kaiser *et al.*]. Selon ces lois, certains éléments minéraux non utilisés pour la formation de la biomasse sont libérés dans le milieu. C'est le processus de minéralisation, par lequel la matière organique est décomposée pour former des composés inorganiques plus simples (comme par exemple le  $\text{CO}_2$  et le  $\text{CH}_4$ ).

Le processus de minéralisation du carbone en  $\text{CO}_2$ , en aérobie, est réalisé en deux phases principalement dirigées par les microorganismes : une phase extracellulaire et une seconde intracellulaire. La phase extracellulaire est assurée par des enzymes extracellulaires excrétées par les microorganismes afin que celles-ci dégradent les polymères de grande taille en substrats de plus petite taille assimilables par les microorganismes. Par exemple, la cellulose et l'hémicellulose nécessitent l'intervention de trois enzymes extracellulaires : les endoglucanases et exoglucanases hydrolysent ces polymères complexes en cellobiose, celle-ci est par la suite hydrolysée en glucose par la  $\beta$ -glucosidase [M. K. Bhat et S. Bhat]. La dégradation de la lignine est plus complexe, elle fait intervenir des peroxydases et des laccases [T. Higuchi]. Les phénol-oxydases vont, quant à elles, dégrader la lignocellulose [Burns ; Sinsabaugh]. Ces réactions de catalyse enzymatique ne génèrent pas de  $\text{CO}_2$ . Les substrats ainsi dégradés deviennent assimilables par les microorganismes et entrent dans la seconde phase de la minéralisation : la respiration aérobie. Cette respiration utilise l'oxygène comme accepteur final d'électrons et fait intervenir plusieurs voies métaboliques importantes nécessitant de nombreuses endoenzymes et de nombreux cofacteurs. Cette respiration est divisée en trois grandes parties. La première, intracytoplasmique, est la dégradation du glucose en pyruvate (supporté par la voie d'Embden Meyerhorf, des pentoses phosphates et d'Entner Doudoroff). La seconde, intramitochondriale, est l'oxydation du pyruvate en trois molécules de  $\text{CO}_2$  faite par le cycle de Krebs. La dernière est la chaîne de transfert des électrons pour convertir l'énergie de l'oxydation du NADH et du  $\text{FADH}_2$  issus de la glycolyse et du cycle de Krebs en ATP [L. M. Prescott *et al.*].



**Figure 1 :** Schéma simplifié des différentes formes d'azote du sol, d'après J. Deenik, 2006. L'azote est aussi bien sous forme organique qu'inorganique dans les sols. La minéralisation de l'azote permet le passage d'une forme d'azote organique du sol à une des formes minérales d'azote : le NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

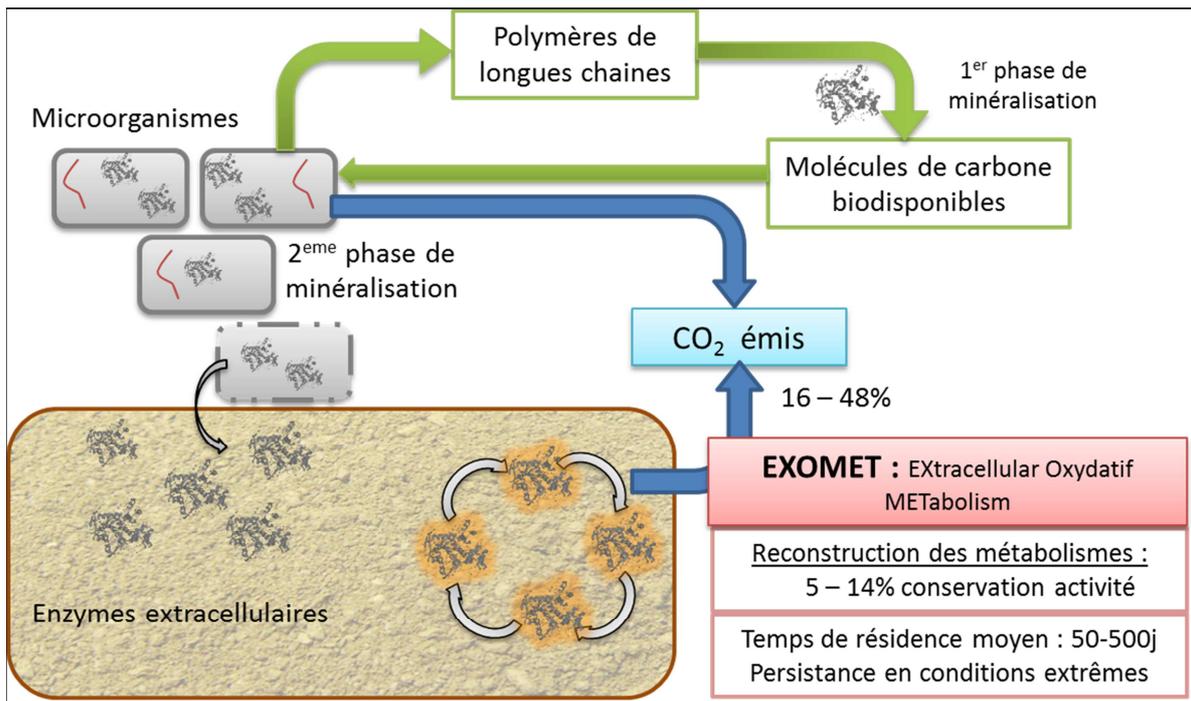
Les molécules carbonées dans les sols sont souvent de forme complexe, elles doivent donc subir une étape de dégradation par des enzymes extracellulaires avant de pouvoir être assimilées. Or, en présence d'un manque d'azote dans le milieu, cette minéralisation diminue [S. Fontaine *et al.*]. En effet, les microorganismes ont besoin d'un ratio carbone/azote ; la minéralisation du carbone est donc étroitement liée à la minéralisation de l'azote.

## 1.2 – Les métabolismes microbiens dans le cycle de l'azote

L'apport non anthropique d'azote dans les sols est d'origine atmosphérique. La fixation de cet azote atmosphérique fait principalement intervenir des microorganismes libres ou symbiotiques. Ces molécules azotées sont stockées dans le sol sous forme organique (protéines, acides aminés, etc.) ou inorganique ( $\text{NO}_3^-$  et  $\text{NH}_4^+$ ). Néanmoins la principale source d'azote pour les microorganismes dans les écosystèmes terrestres est l'ensemble des résidus des plantes et des microorganismes dont les molécules les plus retrouvées sont notamment les protéines, les chitines et les peptidoglycanes [D. Geisseler *et al.*]. Par la suite, ces molécules peuvent être décomposées par les procédés de dénitrification et de minéralisation (Figure 1). La dénitrification est un processus anaérobie qui n'est possible dans les sols qu'à l'intérieur de micro-agrégats en anoxie et dans la rhizosphère, alors que la minéralisation de l'azote en tant que procédé aérobie peut avoir lieu dans toutes les fractions du sol [P. Davet].

La minéralisation de l'azote consiste en la transformation de la matière organique du sol en azote inorganique :  $\text{NO}_3^-$  et  $\text{NH}_4^+$  [J. Deenik]. Dans le sol, cette transformation peut se compliquer car les composés azotés peuvent être sous forme complexe. Ils peuvent être, par exemple, liés à des polyphénols ; ainsi les communautés microbiennes synthétisent des enzymes extracellulaires dans le but de lyser ces molécules et d'avoir des substrats assimilables [S. Muruganandam *et al.*]. Les enzymes extracellulaires intervenant dans la première étape de la dégradation de ces molécules organiques sont des hydrolases, comme par exemple, des amino-peptidases et des acétyl-glucosaminidases qui hydrolysent des molécules de sucres ou des acides aminés en composés plus simples [R. L. Sinsabaugh et J. J. Follstad Shah].

Faisant suite à ces réactions, la minéralisation se poursuit grâce à deux procédés. Dans un premier temps, l'ammonification permet le passage des composés azotés de type protéines et acides aminés en ammoniacque ( $\text{NH}_4^+$ ). Ensuite la nitrification permet (i) le passage de l'ammoniacque en acide nitreux ( $\text{HNO}_2$ ) *via* la nitrosation et (ii) l'oxydation des nitrites ( $\text{NO}_2^-$ )



**Figure 2 : Schéma intégrant les METabolismes Oxydatifs EXtracellulaires (EXOMET) dans le cycle de la minéralisation du carbone.** La première partie de la minéralisation du carbone fait intervenir des enzymes extracellulaires produites par les microorganismes. Ces enzymes lysent les polymères de longue taille en molécules plus petites et plus assimilables sans production de CO<sub>2</sub>. La 2<sup>ème</sup> phase de la minéralisation a lieu dans les cellules et entraîne une émission de CO<sub>2</sub>. Une fois les cellules lysées, V. Maire et collaborateurs pense qu'une partie des enzymes intracellulaires sont stabilisées dans les sols et peuvent reconstituer les métabolismes oxydatifs intracellulaires en extracellulaires et ainsi participer aux émissions de CO<sub>2</sub>.

en nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) *via* la nitratisation [P. Davet]. Elle fait intervenir 3 enzymes : l'ammonium mono-oxygénase, l'hydroxylamine oxydoréductase et le nitrite oxydoréductase. Les deux premières interviennent dans l'étape de nitrosation, elles oxydent l'ammonium en nitrite en passant par l'intermédiaire de l'hydroxylamine ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ), tandis que la dernière enzyme fait l'étape de nitratisation [A. Cébron]. Au cours de ces réactions, un gradient de proton se forme, permettant la synthèse d'énergie grâce à la phosphorylation oxydative [L. M. Prescott *et al.*].

Cette vision des mécanismes intracellulaires impliqués dans la minéralisation de la matière carbonée et azotée était celle communément admise par la communauté scientifique avant 2013. Cependant la découverte de V. Maire *et al.* en 2013 propose l'existence d'un autre mécanisme intervenant dans les processus de minéralisation de la matière : le métabolisme oxydatif extracellulaire dit l'EXOMET (pour EXtracellular Oxydative METabolism).

### 1.3 – Les métabolismes extracellulaires oxydatifs

Depuis des années, des études montraient que des émissions de  $\text{CO}_2$  pouvaient persister en grande quantité dans des sols pour lesquels l'activité cellulaire avait été fortement réduite par des traitements thermiques (autoclave, R. Lensi *et al.*) et par des traitements chimiques (fumigation au chloroforme, D. S. Jenkinson et D. S. Powlson). Ce n'est qu'en 2013 qu'une hypothèse a été formulée quant à l'origine de ces émissions lors d'une étude réalisée par V. Maire *et al.*

Lors de cette étude, les auteurs montrent la persistance d'activité métabolique après avoir inoculés des extraits de levures (*Pichia pastoris*) dans des microcosmes stériles qui ont été préalablement irradiés à 45 KGy. Ces métabolismes oxydatifs émettraient de 16 à 48% de  $\text{CO}_2$  et conserveraient 5 à 14% de leurs activités. Ils nomment ces métabolismes extracellulaires l'EXOMET pour EXtracellular Oxydatif METabolism (Figure 2). La persistance de ces enzymes intracellulaires en extracellulaires serait rendue possible suite à leur stabilisation dans les sols par adsorption aux particules minérales telles que l'argile et/ou aux particules organiques telles que des débris cellulaires. Ainsi, elles seraient protégées de la protéolyse et des dénaturations, ce qui permettrait leur maintien dans les sols à plus long terme (temps moyens de résidence dans le sol supérieur à 50–500 jours). De plus, ces métabolismes resteraient actifs en présence de fortes températures (supérieures à  $150^\circ\text{C}$ ), de fortes pressions (2,5 KPa) et de chloroforme.



Ces enzymes de la glycolyse et du cycle de Krebs interviennent dans le métabolisme oxydatif normalement intracellulaire. Ils émettent donc l'hypothèse qu'elles proviendraient de la lyse cellulaire et qu'elles maintiendraient ce métabolisme actif dans le sol sans avoir recourt à une organisation cellulaire. Dans cette étude, les auteurs insistent également sur l'importance de différencier le métabolisme oxydatif extracellulaire de celui intracellulaire et attirent l'attention sur une possible modification, due au réchauffement climatique, de l'équilibre entre ces deux métabolismes.

## **2 – L'intensification des événements arides et leurs impacts sur les environnements**

Le groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (le GIEC) estime qu'entre 1990 et 2100 les températures vont augmenter de 1,4 à 5,6°C [H. T. Houghton *et al.*]. Cette augmentation de la température a des conséquences directes sur les environnements et des conséquences indirectes entraînant des modifications d'autres paramètres abiotiques du sol tels que le contenu en eau ou l'évapotranspiration. Tous ces facteurs vont avoir une influence sur l'activité et la concentration des communautés microbiennes.

### 2.1 – Sur l'environnement abiotique du sol

Dans ce contexte de réchauffement climatique, les phénomènes de précipitation seront perturbés et ceux d'évaporation seront intensifiés [J. T. Houghton]. Ces deux variables vont influencer l'indice d'aridité de certaines zones géographiques. En effet, certaines zones auront des précipitations plus intenses et une augmentation de l'humidité tandis que dans d'autres régions le risque de sécheresse augmentera [J. T. Houghton]. Ces modifications vont entraîner des changements de l'humidité relative dans les sols. Or, le contenu en eau d'un sol est un paramètre important car lorsqu'il diminue, le transport des liquides mais aussi la diffusion des gaz et des nutriments changent. En effet, l'air et l'interface eau-gaz augmentent entraînant une meilleure diffusion des gaz mais une moins bonne disponibilité des substrats. Il en résulte donc qu'un changement des précipitations entraîne des modifications dans les paramètres physicochimiques du sol et dans la biodisponibilité de la matière [D. Or *et al.*].

De plus, l'action concomitante de l'augmentation de la température et de la diminution de l'humidité conduit à une aridification des terres. L'aridité résulte de la manifestation d'une chaleur excessive et de précipitations inadéquates et variables. Trois zones d'aridité sont identifiables en fonction des précipitations et de l'évapotranspiration qu'elles subissent : la zone aride, semi-aride et sub-humique. Ce sont généralement des milieux pauvres en eau et en



matières organiques où les forces d'agrégations sont faibles [M. Winslow *et al.*], ce qui tend à augmenter les procédés de désertification.

Ce biome s'étend, pour l'instant, sur 41% des terres et supporte 38% de la population humaine [M. Delgado-Baquerizo *et al.*]. Une augmentation globale de la température de l'air va entraîner des modifications de l'humidité des sols et amplifier le phénomène d'aridité. Tous ces phénomènes vont avoir des conséquences dans les écosystèmes terrestres en changeant les propriétés du sol et les communautés qui le composent.

## 2.2 – Sur l'environnement biotique du sol

Dans un premier temps, l'augmentation de la température entraîne un changement dans la population microbienne car l'abondance des champignons et des bactéries présentes est influencée par ce paramètre abiotique [H. F. Castro *et al.*]. Bien que majoritairement ubiquistes, les microorganismes du sol sont impactés par les modifications de température saisonnières. En effet, les champignons sont plus avantagés par les températures basses de l'hiver tandis que les bactéries sont favorisées en été [J. Pietikäinen, M. Pettersson et E. Baath]. Les changements de température influencent la composition des communautés microbiennes en changeant notamment le ratio champignons/bactéries.

De même, l'humidité dans les sols est un point très important pour les populations microbiennes qui y vivent, étant donné que les précipitations ont un impact direct sur la composition des communautés microbiennes [H. F. Castro *et al.*]. En effet, l'eau est le principal transporteur dans les sols, elle régule donc la dispersion des communautés microbiennes et la disponibilité des substrats. La fragmentation des habitats microbiens dans le sol résulte ainsi de la présence de films d'eau. Dans ces points précis, dits « hot-spot », les microorganismes sont concentrés et actifs, leur densité dans le sol est de  $2,6 \cdot 10^{13} \cdot \text{m}^{-3}$  [D. Or *et al.*]. Coïncidant avec cette action indirecte de l'eau, la disponibilité en eau influence aussi les communautés microbiennes de façon directe. En effet, une diminution de l'eau dans le sol peut entraîner un changement dans les propriétés osmotiques de la cellule, celles-ci peuvent alors être confrontées à de la plasmolyse<sup>1</sup> [D. Or *et al.*].

En définitive, l'aridité a également un impact sur les propriétés biotiques du sol car la fréquence des cycles d'humidité et de sécheresse modifie l'activité microbienne. Cette action n'est pas homogène dans le sol, une différenciation entre les communautés en surface et celles

---

<sup>1</sup> Défini dans Larousse comme la perte d'eau d'une cellule vivante placée dans un liquide hypertonique entraînant une rétractation du cytoplasme autour du noyau.



en profondeur est visible [Y. Wang *et al.*]. Les microorganismes de surface peuvent exploiter les faibles quantités d'eau, présentes avant l'évaporation rapide de ces milieux, alors que les racines des plantes et les communautés microbiennes en profondeur n'y auront pas accès. Une désynchronisation de la disponibilité en eau entraîne un décalage entre les ressources disponibles du sol et celles utilisées. De plus, ces cycles d'humidifications et d'assèchements répétés provoquent des perturbations sur les agrégats du sol. Ces dernières entraînent une désorption de la matière organique qui sera donc exposée et disponible pour les microorganismes. Cette augmentation de substrats dans le milieu couplée au temps de latence de leur utilisation va favoriser la dénitrification ou le lessivage de ces composés, provoquant ainsi la perte de ces éléments pour ces environnements [A. T. Austin *et al.*]. Parallèlement à ce lessivage, l'aridité entraîne une diminution des communautés microbiennes et de la productivité des plantes, elle limite donc la photosynthèse, la fixation de l'azote atmosphérique et la minéralisation microbienne qui composent les cycles du carbone et de l'azote.

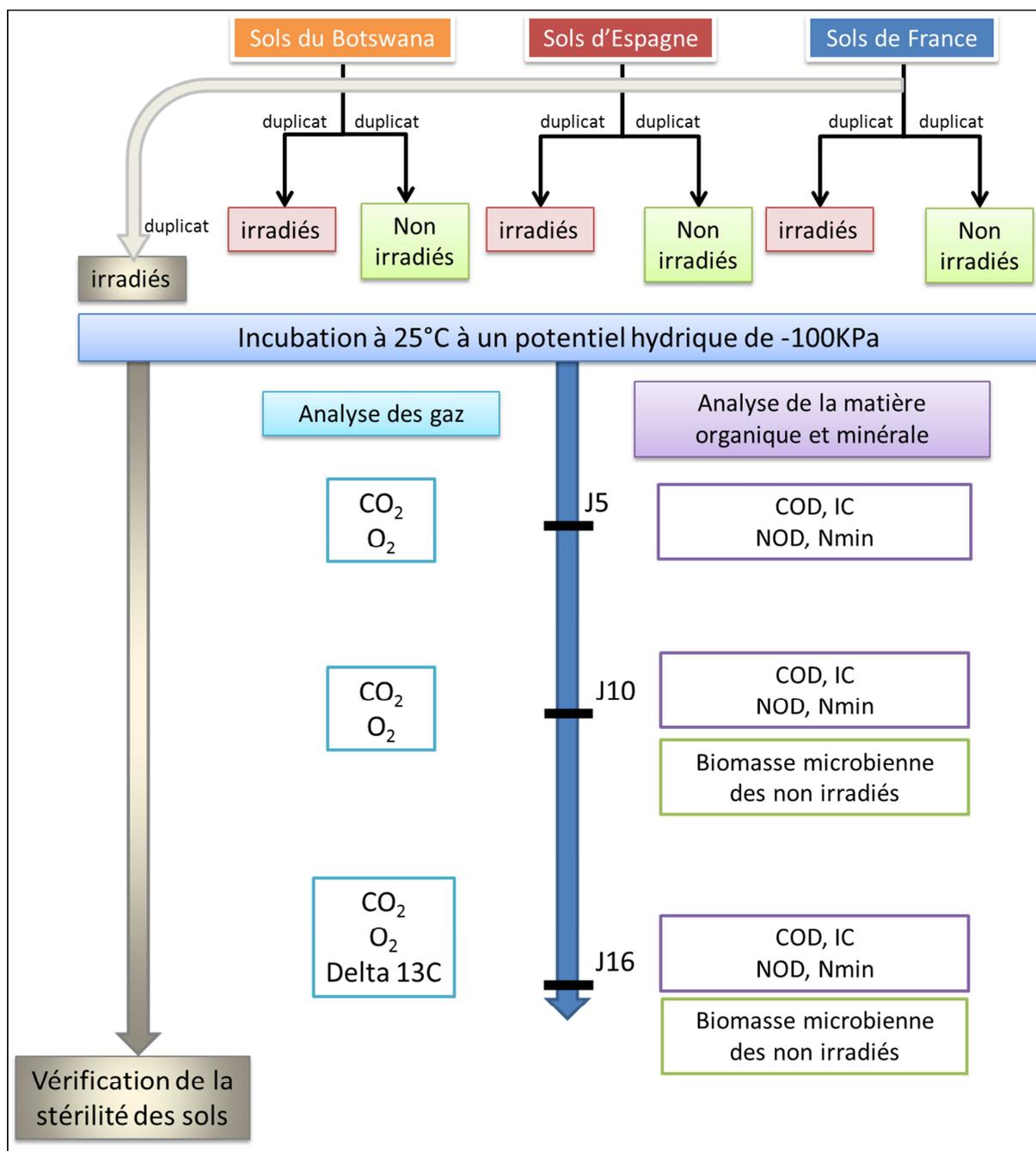
A l'échelle enzymatique, la température influence l'activité des enzymes extracellulaires seulement si l'humidité est assez élevée dans le milieu [H. A. L. Henry]. Le taux d'humidité dans un sol a un impact sur la biodisponibilité des substrats et des cofacteurs. L'aridité, elle, induit des stress oxydatifs entraînant l'expression de phénol-oxydases [R. L. Sinsabaugh] ou la lyse de microorganismes, augmentant ainsi les pools enzymatiques du sol.

Le réchauffement climatique a des impacts sur les deux métabolismes oxydatifs. Il influence l'équilibre des communautés microbiennes et contrôle les activités des enzymes extracellulaires, directement par la température ou indirectement via la disponibilité des substrats. Ensemble, ces deux facteurs conduisent à une augmentation de l'aridité qui entraîne une désertification et une diminution des propriétés biotiques du sol, donc un apport d'enzymes extracellulaires dans le milieu.

### **3 – Objectifs de stage**

Ce stage a pour objectif de quantifier l'importance relative des métabolismes oxydatifs extracellulaires et intracellulaires dans le sol face à un gradient d'aridité dans les processus de minéralisation de l'azote et du carbone.

Ce stage est le fruit d'une collaboration entre une équipe espagnole travaillant sur la biodiversité et les cycles du carbone et de l'azote dans les milieux arides à l'Université de Madrid et l'Unité de Recherche sur l'Écosystème Prairial de l'INRA de Crouel.



**Figure 3 : Schéma de la démarche expérimentale.** Six sols du Botswana, douze sols d'Espagne et cinq sols de France sont utilisés. Une partie de chacun de ces sols est irradiée (avec des rayons gamma), l'autre ne subit aucun traitement préalable. Ils sont tous incubés à 25°C et à un potentiel hydrique de -100 kPa. Pour chaque sol et à différents temps sont analysées les variations du carbone organique dissous (COD), du carbone inorganique (IC), de l'azote organique dissous (NOD), de l'émission de CO<sub>2</sub>, de la consommation d'O<sub>2</sub> ainsi que du taux d'azote minéral (Nmin). Sur ces mêmes sols, une quantification de la biomasse microbienne est faite sur les sols non irradiés au deuxième et troisième temps. Parallèlement, des sols irradiés sont incubés afin de tester la stérilité.

L'hypothèse de travail est la suivante : l'augmentation de l'aridité entraîne une augmentation de la lyse cellulaire, ce qui entrainerait une augmentation de l'EXOMET et donc un changement dans la contribution relative des métabolismes intracellulaires et extracellulaires.

Afin d'estimer l'influence de l'aridité sur ces différents métabolismes (Figure 3), nous avons travaillé sur des incubations en microcosmes de sol. Au préalable, nous avons mis au point un modèle qui nous a permis de définir notre démarche expérimentale. Afin d'étudier l'influence de l'aridité, des sols provenant du Botswana (au sud de l'Afrique), d'Espagne et de France sont utilisés. Une fraction des sols est incubée sans traitement préalable de stérilisation (expression simultanée des métabolismes intracellulaires et extracellulaires), alors que la seconde fraction subit une stérilisation par irradiation gamma avant l'incubation, ceci permet d'inactiver l'expression du métabolisme intracellulaire. Sur chaque sol, nous avons analysé les variations du carbone organique dissout (COD), du carbone inorganique (IC), de l'azote organique dissout (NOD), de l'émission de CO<sub>2</sub>, de la consommation d'O<sub>2</sub> ainsi que la quantité d'azote minéral à différents temps sur une période de 3 semaines.

**Tableau 1 : Coordonnées des sols prélevés.** Les sols du Botswana et d'Espagne proviennent de la banque de données de l'équipe ESCET, Espagne. Les sols de France ont été prélevés par l'UREP, France.

Pays	Région	Latitude	Longitude
Botswana	Bokspits	-26,776	20,844
Botswana	Khawa	-26,786	21,313
Botswana	Middlepits	-26,397	22,082
Botswana	Phirima	-26,260	22,188
Botswana	Tsabong	-25,937	22,421
Botswana	Werda	-25,200	22,931
Espagne	Barrax	39,05	-2,23
Espagne	Campo Real	40,33	-3,42
Espagne	Carrascoy	37,80	-1,30
Espagne	Huelves	40,07	-2,90
Espagne	Morata	40,21	-3,42
Espagne	Ontígola	39,99	-3,62
Espagne	Sierra Espuña	37,82	-1,67
Espagne	Titulcia	40,19	-3,50
Espagne	Villarobledo	39,21	-2,51
Espagne	Zorita	38,59	-1,20
Espagne	Yecla	40,35	-2,88
<b>France</b>	Brioude	45,47	3,45
<b>France</b>	Murviel-lès-Montpellier	43,60	3,81
<b>France</b>	Pleyben	48,23	-3,96
<b>France</b>	Roquetaillade	44,24	3,06
<b>France</b>	Theix	45,71	3,01

## MATERIEL ET METHODE

---

### 1 – Sites d'études et échantillonnages

Afin d'établir un gradient naturel d'aridité, des sols du Botswana (Bokspits, Khawa, Middlepits, Phirima, Tsabong et Werda), d'Espagne (Barrax, Camporeal, Carrascoy, Huelves, Morata, Ontigola, Sierra Espuña, Titulcia, Villarobledo, Yecla et Zorita) et de France (Brioude, Murvielle-lès-Montpellier, Pleyben, Roquetaillade et Theix) ont été utilisés, les coordonnées de ces points de prélèvement sont dans le **Tableau 1**. Les indices d'aridité pour chaque site (**Tableau 2**) ont été déterminés par l'équation  $IA = P/ETP$  où IA est l'indice d'aridité, P la hauteur moyenne annuelle des précipitations (en millimètre) et ETP l'évapotranspiration potentielle moyenne annuelle (en millimètre). Les données d'évapotranspiration et de précipitation ont été collectées sur le site internet CLIMATIK (<https://intranet.inra.fr/climatik/do>) pour les sols français et dans les bases de données WorldClim (<http://www.worldclim.org/>) pour les sols d'Espagne et du Botswana. Cet indice d'aridité permet d'attribuer une classe de climat à une région géographique selon la classification présentée dans le **Tableau 3**.

Selon la Base de Référence Mondiale des Ressources en sol de la FAO (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture), les sols étudiés sont des cambisols pour les sols de France, des fluvisols (4 sols) et des cambisols (8 sols) pour l'Espagne et des régosols (1 sol) et arénosols (4 sols) au Botswana. Pour chaque sol, une fraction de celui-ci a été irradiée par une dose de 45 kGy de radiations gamma (IONISOS, ISO14001, France). Cette technique permet la dégradation des brins d'ARN et d'ADN, elle inhibe par conséquent les activités de traduction et de transcription et induit une mort cellulaire. Cette dose d'irradiation cause une diminution de l'activité cellulaire à des niveaux indétectables par les outils analytiques actuels (Maire et al. ; Kéroual et al., *in prep*).

### 2 – Incubation des sols en microcosmes

Pour chacun des sites de prélèvement, deux réplicats de sols non irradiés (métabolismes intracellulaires + métabolismes extracellulaires) et deux réplicats de sols irradiés (métabolismes extracellulaires) sont incubés. Quinze grammes de chaque échantillon ont été incubés dans des bouteilles en verre de 118 mL à 25°C, à l'obscurité et à un potentiel hydrique de -100 kPa. Le mode opératoire suivi intègre une cinétique sur trois temps (5 jours, 10 jours et 16 jours) et chaque échantillonnage est destructif. A chaque temps et sur chaque

**Tableau 2 : Indice d'aridité des sols.** L'indice d'aridité bioclimatique est le rapport entre la moyenne annuelle de la hauteur moyenne des précipitations sur la moyenne annuelle de l'indice d'évapotranspiration potentielle, calculé selon la méthode de Penman. Pour les sols de France, les données de la station météorologique la plus proche du point de prélèvement ont été utilisées, ces données proviennent du site internet CLIMATIK.

Pays	Régions (stations météorologiques)	Indice d'aridité climatique
Botswana	Bokspits	0.100
Botswana	Khawa	0.108
Botswana	Middlepits	0.139
Botswana	Phirima	0.152
Botswana	Tsabong	0.177
Botswana	Werda	0.175
Espagne	Barrax	0,35
Espagne	Camporeal	0,39
Espagne	Carrascoy	0,28
Espagne	Huelves	0,42
Espagne	rata	0,38
Espagne	Ontigola	0,36
Espagne	Sierra Espuña	0,32
Espagne	Titulcia	0,38
Espagne	Villarobledo	0,36
Espagne	Yecla	0,40
Espagne	Zorita	0,36
France	Brioude (Marcenat)	1,91
France	Murvielle-lès-Montpellier (Montpellier)	0,60
France	Pleyben (Pluguffann)	1,61
France	Roquetaillade (Millau)	0,69
France	Theix	1,20

**Tableau 3 : Classification du climat selon l'indice d'aridité, d'après Lelievre *et al.***

IA = P/ETP	Classe de climat
<0,05	Hyper-aride
0,05 à 0,2	Aride
0,2 à 0,5	Semi-aride
0,5 à 0,65	Sub-humide sec
0,65 à 0,75	Sub-humide
0,75 à 1	Humide
> 1	Hyper-humide

sol, les concentrations en carbone organique dissout (COD), en carbone inorganique (IC), en azote organique dissout (NOD) et en azote minéral (Nmin) sont déterminées et la quantité de carbone issue de la biomasse microbienne (BM) est estimée. Les concentrations en O<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub> dans l'air atmosphérique des microcosmes à chaque temps (jour 5, 10 et 16) ainsi que la signature isotopique du C-CO<sub>2</sub> de chaque échantillon au dernier temps d'incubation (J16) sont mesurées.

### **3 – Mesure de la teneur en O<sub>2</sub>, des émissions de CO<sub>2</sub> et de la signature isotopique du carbone**

A chacune de ces dates, le gaz des microcosmes a été analysé pour estimer la quantité d'O<sub>2</sub> consommé et la quantité de CO<sub>2</sub> émis. La concentration en O<sub>2</sub> est estimée par un microchromatographe qui permet la séparation des différents constituants d'un gaz par une technique de chromatographie en phase gazeuse (Agilent 3000, Agilent Technologies Inc., Colorado Springs, USA). La concentration en C-CO<sub>2</sub> est, quant à elle, déterminée par un spectromètre infrarouge non dispersif (Binos 100 4P-IR, Fisher-Rosemount, Hasselroth, Allemagne). Au dernier temps d'incubation, l'influence des deux métabolismes et des métabolismes extracellulaires seuls sur la signature isotopique du C-CO<sub>2</sub> a été estimée avec un analyseur infrarouge de type CRDS (Cavity Ring-Down Spectroscopy, Picarro 2131-i analyser, Picarro Inc., Santa Clara, CA, USA).

### **4 – Analyses de la matière organique et minérale des sols**

Afin de déterminer la concentration en COD, IC, NOD, une technique d'extraction au K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> est utilisée. Elle permet une désorption efficace des molécules adsorbées aux matières minérales et organiques non dissoutes. Cinq grammes de sol ont été agités avec 25 mL de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 30 mM pendant 40 min. Ces solutions ont été centrifugées à 3000 rpm pendant 5 minutes. Les surnageants sont ensuite filtrés au moyen d'un filtre en fibre de verre à 1,6 µm (GE Healthcare, Life Sciences, Whatman<sup>TM</sup>, Glass microfiber filters) et sont conservés à -20°C en attendant d'être analysés avec un analyseur TOC (Shimadzu®). Faute de temps, les analyses du dernier temps n'ont pas pu être faites durant mon stage.

Les deux formes d'azote minéral, le NO<sub>3</sub> et le NH<sub>4</sub>, ont été extraits avec du KCl à 1 M. Cinq grammes de sol ont été agités 40 min avec 25 mL de KCl 1 M. Les extraits sont filtrés au moyen d'un filtre en fibre de verre à 1,6 µm (GE Healthcare, Life Sciences, Whatman<sup>TM</sup>, Glass microfiber filters) et sont ensuite mis au congélateur à -20°C en attendant d'être analysés grâce à un analyseur colorimétrique de flux segmenté (VETAGRO, France).

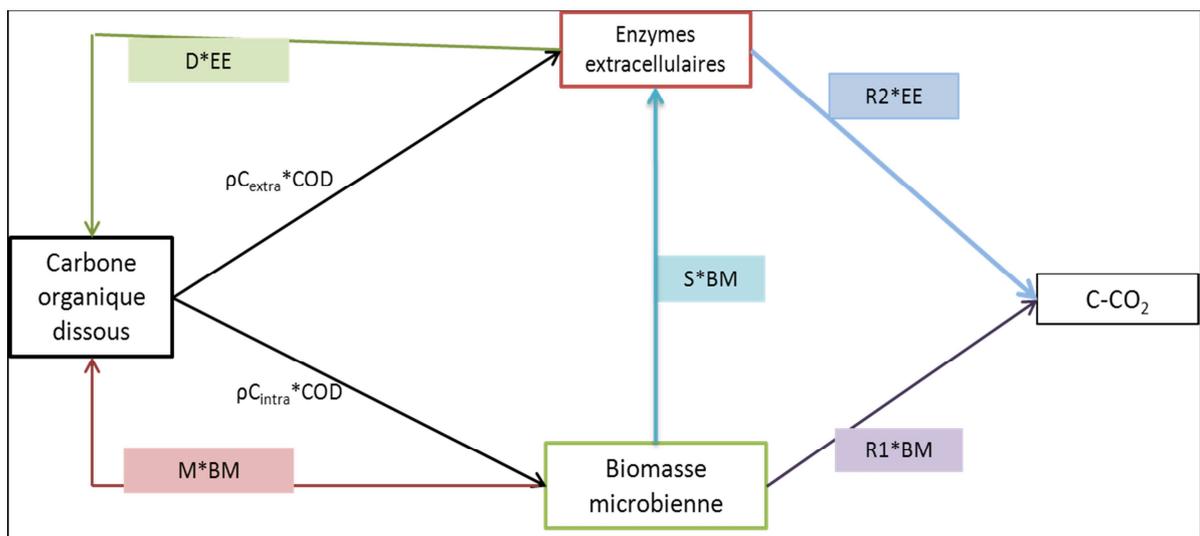


## **5 – Quantification de la biomasse microbienne dans les sols**

La biomasse microbienne a été déterminée par la technique de fumigation et d'extraction de E. D. Vance *et al.*, en 1987. Brièvement, pour chaque échantillon cinq grammes du sol incubé ont été exposés à du chloroforme sans éthanol pendant 24h. Puis l'extraction a été faite avec 20 mL de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 30 mM mis à agiter pendant 40 min. Ces extractions sont centrifugées à 3000 ppm pendant 5 minutes, filtrées grâce à un filtre en fibre de verre à 1,6 µm (GE Healthcare, Life Sciences, Whatman<sup>TM</sup>, Glass microfiber filters) et sont ensuite conservées au congélateur à -20°C. Ces échantillons seront par la suite analysés grâce à un analyseur TOC (Shimadzu®). Faute de temps, les analyses n'ont pas pu être faites avant la fin de mon stage.

## **6 – Stérilité des sols irradiés**

Afin de vérifier la stérilité des sols irradiés, dix grammes de chaque sol ont été incubés en même temps et dans les mêmes conditions que les sols ayant servi à la quantification des différentes variables mesurées. Ils feront l'objet d'une extraction et d'une quantification de leur ADN et de leur ARN. Les potentielles cellules encore actives seront dénombrées par une méthode de CARD-FISH en utilisant une sonde spécifique du 16S bactérien.



**Figure 4 : Modèle simple établi sur le cycle du carbone.** Ce modèle a pour but de mettre en relation les deux types de métabolismes oxydatifs intracellulaires et extracellulaires et d'estimer les variables à quantifier pour répondre à cette problématique. Ici, BM : la biomasse microbienne ; D : Flux de carbone dépolymérisé ; EE : les enzymes extracellulaires ; M : Flux de carbone issu de la lyse cellulaire ; R1 : la respiration intracellulaire ; R2 : la respiration des enzymes oxydatives extracellulaires ; S : la stabilisation des enzymes dans le sol et  $\rho$  : le flux de carbone issu des substrats.

## RESULTATS

### 1 – Modélisation mathématique des flux de matière de carbone dans le sol par les métabolismes intracellulaires et extracellulaires

Afin d'identifier les variables d'intérêts pour cette étude, un modèle simple portant sur le cycle du carbone a été établi. Dans un premier temps, un diagramme général a été dessiné (Figure 4). Il met en relation les deux types de métabolismes étudiés ici, l'EXOMET et les métabolismes oxydatifs intracellulaires, par l'équation suivante :

$$(1) EE = S.BM$$

Où EE représente les enzymes extracellulaires ; S représente la stabilisation des enzymes dans le sol ; BM représente la biomasse microbienne.

Ces deux modules sont en étroite relation avec les flux de carbone entrants et sortants, ici le CO<sub>2</sub> émis et le pool de carbone organique dissout dans les sols qui constitue les substrats des enzymes.

Pour les flux entrants, le carbone organique dissout (COD) est relié aux deux métabolismes par les variables :  $\rho_{\text{intra.COD}}$  et  $\rho_{\text{extra.COD}}$ .

Pour les flux sortants, deux types de flux sont présents :

Les équations suivantes ont été définies pour le CO<sub>2</sub> émis :

$$(2) C\text{-CO}_2 = R1.BM$$

$$(3) C\text{-CO}_2 = R2.EE$$

Où R1 représente la respiration intracellulaire ; BM représente la biomasse microbienne ; R2 représente la respiration des enzymes oxydatives extracellulaires ; EE représente les enzymes extracellulaires.

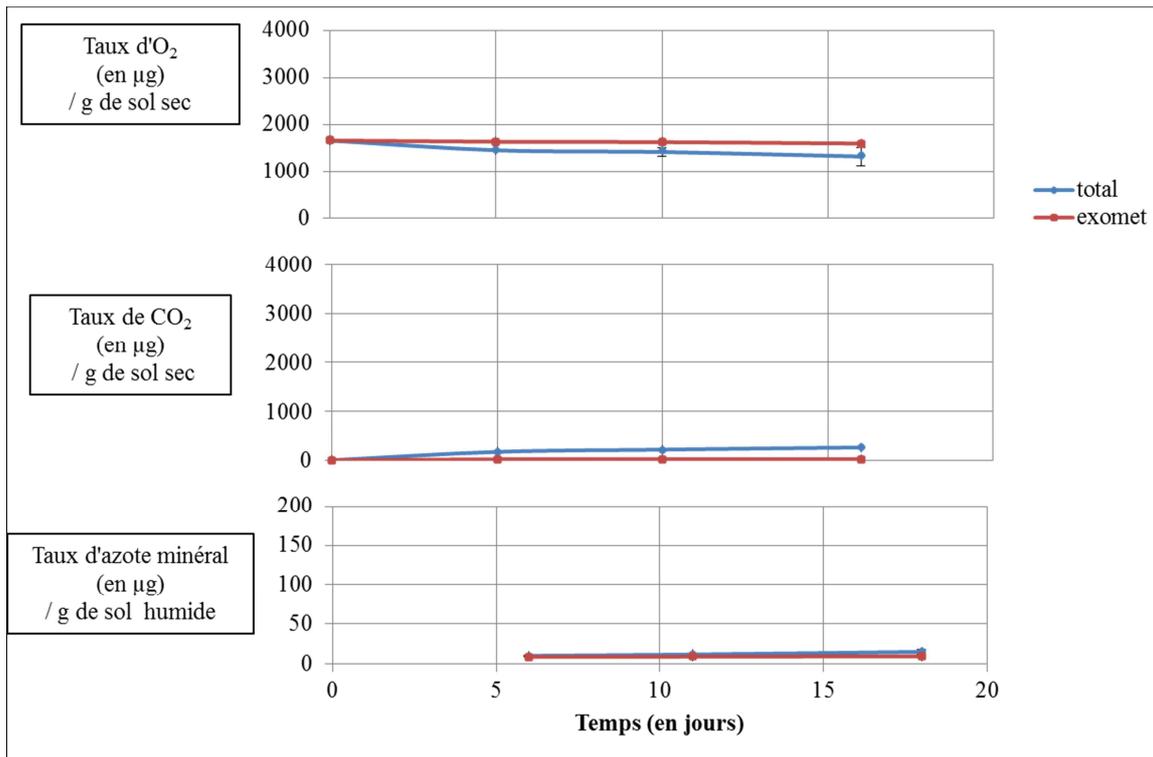
Les équations suivantes ont été définies pour le retour de la matière organique dans le carbone organique dissout (COD) :

$$(4) COD = M.BM$$

$$(5) COD = D.EE$$

Où M représente le flux de carbone issu de la lyse cellulaire ; BM représente la biomasse microbienne ; D représente le flux de carbone dépolymérisé ; EE représente les enzymes extracellulaires.

Le modèle permet d'obtenir l'équation d'abondance relative entre les deux métabolismes.



**Figure 5 :** Courbes de cinétique du sol de Middlepits au Botswana. Ces courbes représentent la cinétique de consommation d'O<sub>2</sub>, l'émission de CO<sub>2</sub> et les changements du taux d'azote minéral pour les deux types de traitements. En bleu sont représentés les sols natifs comprenant les deux types de métabolismes ; en rouge sont exprimés les sols irradiés qui ne comprennent que les métabolismes oxydatifs extracellulaires. Trois points d'analyse ont été faits pour tracer ces cinétiques.

Dans un premier temps, les équations sont établies pour tous les métabolismes :

$$(1) \frac{dEE}{dt} = (\rho_{\text{extra}}.COD + S.BM) - (R2.EE + D.EE)$$

$$(2) \frac{dBM}{dt} = (\rho_{\text{intra}}.COD) - (S.BM + R1.BM + M.BM)$$

A l'équilibre  $\frac{dEE}{dt} = 0$  et  $\frac{dBM}{dt} = 0$  donc :

$$(1) (\rho_{\text{extra}}.COD + S.BM) - (R2.EE + D.EE) = 0$$

$$(2) (\rho_{\text{intra}}.COD) - (S.BM + R1.BM + M.BM) = 0$$

Dans le milieu, la stabilisation des enzymes est négligeable donc  $S.BM = 0$ .

Ces équations vont ensuite exprimer les deux métabolismes :

$$(1) EE = \frac{\rho_{\text{extra}}.COD}{R2+D}$$

$$(2) BM = \frac{\rho_{\text{intra}}.COD}{R1+M}$$

L'abondance relative devient donc :

$$\frac{EE}{BM} = \frac{\rho_{\text{extra}} (R1+M)}{\rho_{\text{intra}} (R2+D)}$$

Dans la bibliographie, l'aridité module les flux de matière et entraîne un stress oxydatif pouvant entraîner la lyse des cellules ce qui peut modifier la biomasse microbienne.

A l'équilibre, l'équation de l'abondance relative du modèle devient donc :

$$\frac{EE}{\beta.BM} = \frac{\rho_{\text{extra}} (R1+M)}{\rho_{\text{intra}} (R2+D)}$$

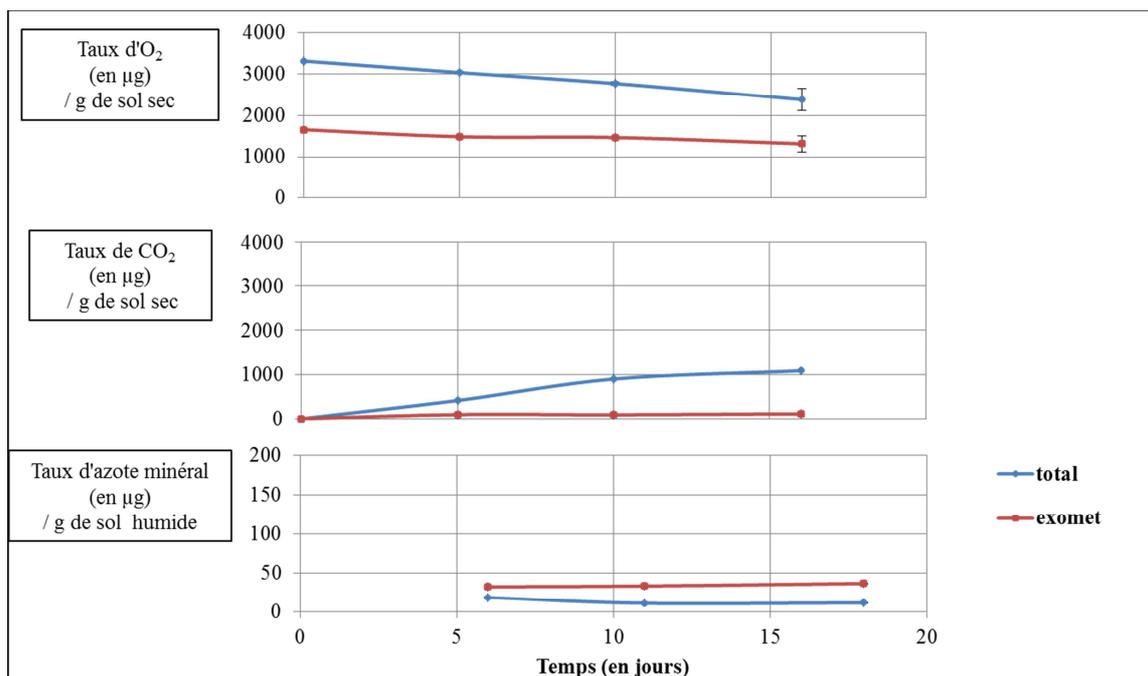
Où  $\beta$  est l'influence de l'aridité sur la biomasse microbienne

## 2 – Les courbes de cinétique des différents microcosmes

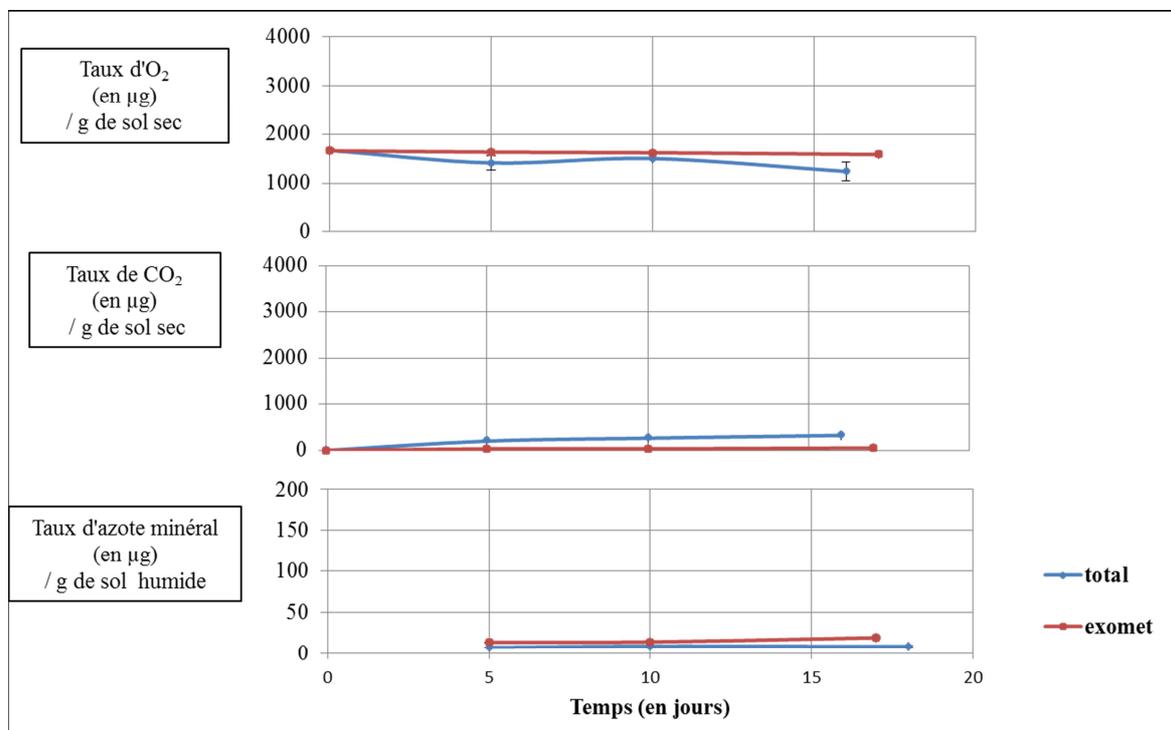
Pour chaque pays, des courbes de cinétique ont été réalisées pour la consommation d'oxygène, la production de dioxyde de carbone et pour l'azote minéral. Les courbes représentées ici ont été choisies car elles correspondent aux résultats représentatifs. Ces courbes de cinétique ont été établies par des analyses sur trois points, sur une période de dix-huit jours.

### 2.1 – Les microcosmes des sols du Botswana

Les six sols du Botswana ont des courbes de cinétique similaires, illustrées ici par le sol de Middlepits (Figure 5). Ces cinétiques sont caractérisées par des différences peu visibles entre les points d'analyse initiaux et finaux. En effet, les activités métaboliques totales d'émission de  $CO_2$ , pour le sol de Middlepits, sont de  $135 \mu g$  de  $CO_2.g^{-1}$  de sol sec pendant la



**Figure 6 :** Courbes de cinétique du sol de Camporeal en Espagne. Ici sont regroupées les courbes de cinétique, établies par trois points d'analyse, de la consommation d'O<sub>2</sub>, de l'émission de CO<sub>2</sub> et des changements du taux d'azote minéral pour les deux types de traitements (sols natifs en bleu et irradiés en rouge).



**Figure 7 :** Courbes de cinétique du sol de Murvielle-lès-Montpellier (France). Ces courbes correspondent à la cinétique de consommation d'O<sub>2</sub>, l'émission de CO<sub>2</sub> et les changements du taux d'azote minéral pour les sols natifs (en bleu) et les sols irradiés (en rouge).

durée d'incubation de 17 jours. Les activités métaboliques extracellulaires représentent  $11 \mu\text{g}$  de  $\text{CO}_2 \cdot \text{g}^{-1}$  de sol sec avec le même temps d'incubation. L'azote minéral, dans ces sols, varie peu. Pour le sol de Middlepits, les activités métaboliques totales vont de  $10,3$  à  $15,2 \mu\text{g}$  d'azote minéral  $\cdot \text{g}^{-1}$  de sol humide sur une période de 12 jours. Cette faible variation se retrouve également dans les activités métaboliques extracellulaires ; entre le premier et le dernier temps d'analyse, la quantité d'azote minéral dû à ces activités varie de  $0,7 \mu\text{g}$  d'azote minéral  $\cdot \text{g}^{-1}$  de sol humide. Ces sols ont également une faible consommation d'oxygène. Le sol de Middlepits a une activité métabolique totale, en 16 jours, de  $335 \mu\text{g}$  d' $\text{O}_2 \cdot \text{g}^{-1}$  de sol sec. Cette consommation est de  $62 \mu\text{g}$  d' $\text{O}_2 \cdot \text{g}^{-1}$  de sol sec pour les activités métaboliques extracellulaires.

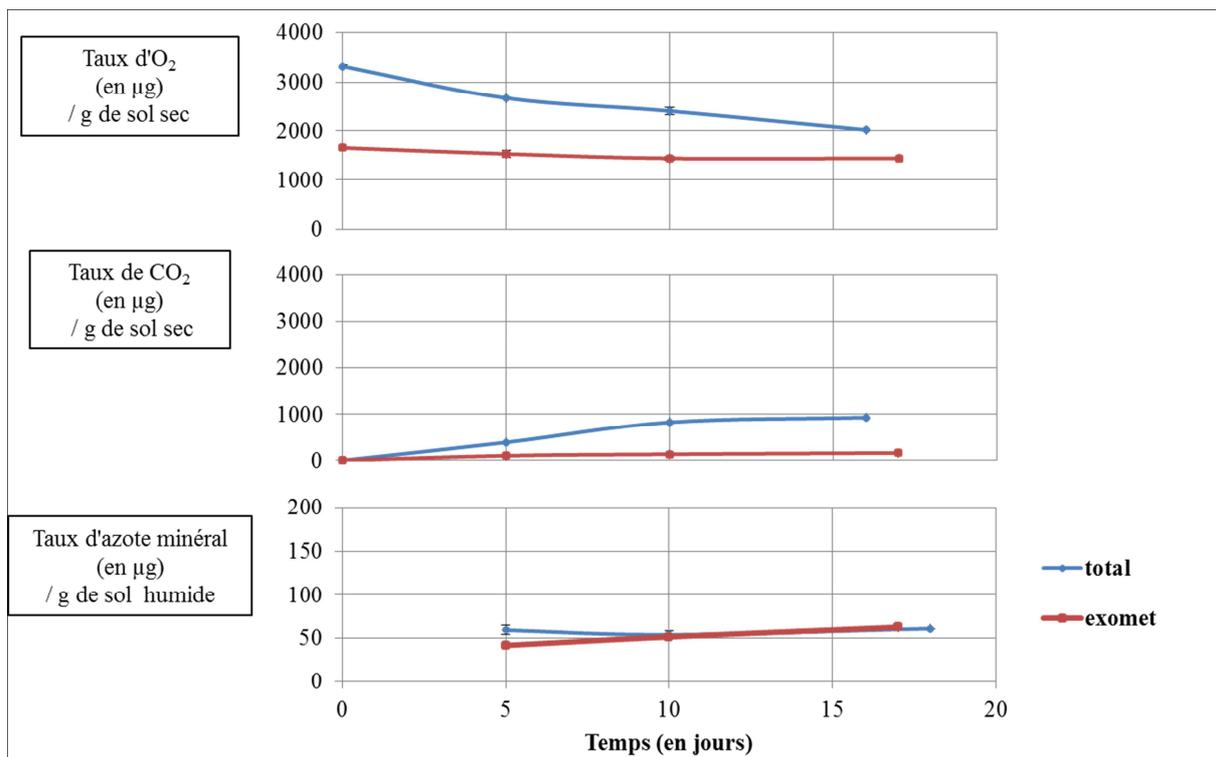
## 2.2 – Les microcosmes des sols d'Espagne

Les sols d'Espagne peuvent être représentés par le sol de Camporeal (Figure 6). Les cinétiques établies pour ce sol présentent des écarts plus importants entre les points initiaux et finaux que ceux des sols du Botswana, sauf pour la quantité d'azote minéral dont l'écart reste faible.

Pour le sol de Camporeal, les activités métaboliques totales d'émission de  $\text{CO}_2$  sont de  $409 \mu\text{g}$  de  $\text{CO}_2 \cdot \text{g}^{-1}$  de sol sec pour une période de 16 jours. Parmi ces activités, celles extracellulaires représentent  $58 \mu\text{g}$  de  $\text{CO}_2 \cdot \text{g}^{-1}$  de sol sec. La quantité d'azote minéral dans les sols d'Espagne varie beaucoup mais sa cinétique de formation reste constante. Pour ce sol, les activités métaboliques totales font varier l'azote minéral, sur une période de 12 jours, de  $18,5$  à  $11,6 \mu\text{g}$  d'azote minéral  $\cdot \text{g}^{-1}$  de sol humide. La quantité d'azote minéral, lorsque seules les activités métaboliques extracellulaires sont présentes, augmente de  $32,3$  à  $36,6 \mu\text{g}$  d'azote minéral  $\cdot \text{g}^{-1}$  de sol humide sur la même période d'incubation. La consommation d' $\text{O}_2$  dans ces sols est importante. Pour le sol de Camporeal, les activités métaboliques totales intervenant dans la consommation de l' $\text{O}_2$  entraînent une diminution de  $931 \mu\text{g}$  d' $\text{O}_2 \cdot \text{g}^{-1}$  de sol total sec sur 16 jours. Une consommation d' $\text{O}_2$  de  $343 \mu\text{g}$  d' $\text{O}_2 \cdot \text{g}^{-1}$  de sol total est faite par les activités métaboliques extracellulaires sur la même période d'incubation.

## 2.3 – Les microcosmes des sols de France

Les sols échantillonnés en France suivent deux tendances. Deux sols sur cinq ont des cinétiques similaires au sol de Murvielle-lès-Montpellier (Figure 7), les trois autres sont représentés par le sol de Theix (Figure 8).

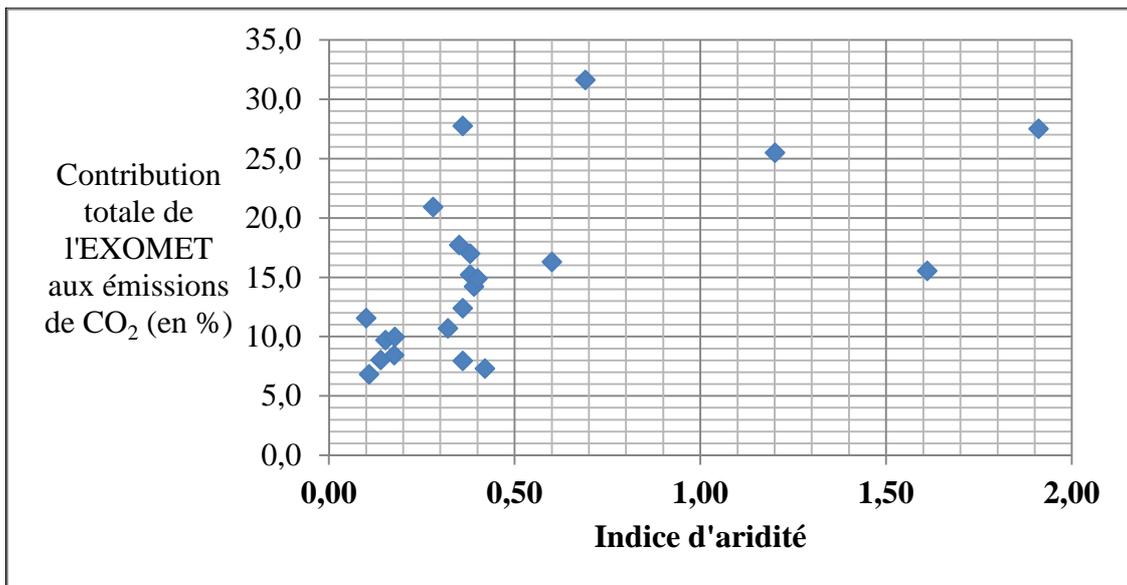


**Figure 8 :** Courbes de cinétique du sol de Theix en France. Les courbes de cinétiques rouges représentent les microcosmes de sol irradié alors que les bleues sont celles du sol natif ; elles ont été faites pour la consommation d'oxygène, l'émission de dioxyde de carbone et l'azote minéral.

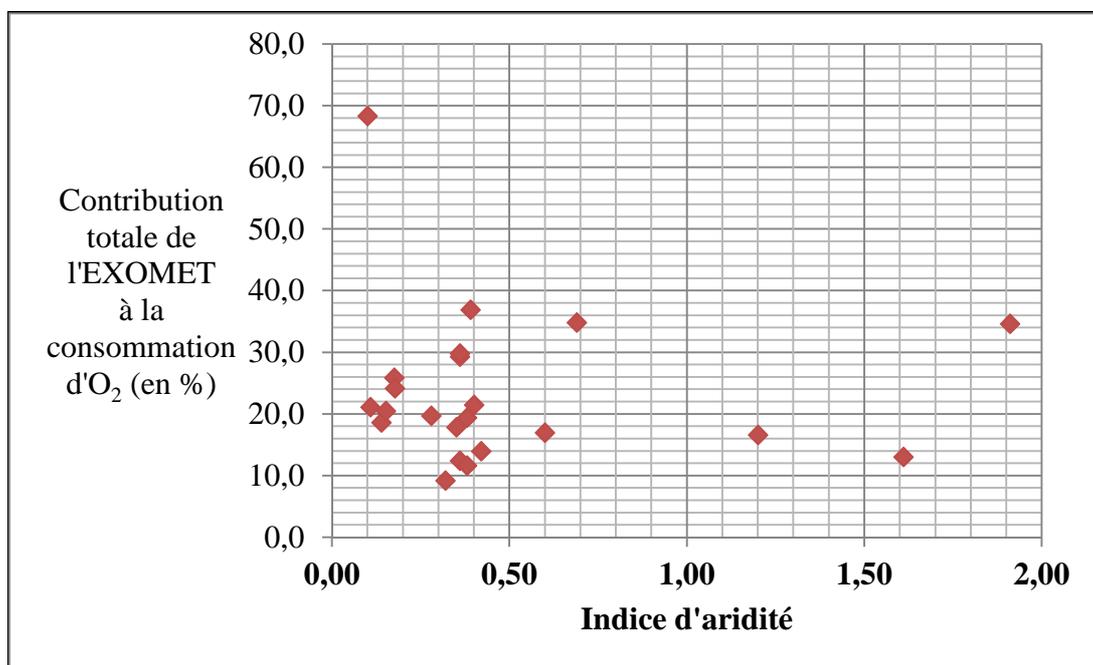
Les sols de Murivelle-lès-Montpellier et de Roquetaillade présentent des courbes d'émissions du CO<sub>2</sub> et de consommation d'O<sub>2</sub> qui augmentent ou diminuent faiblement. Pour le sol de Murivelle-lès-Montpellier, les activités métaboliques totales contribuant à l'émission de CO<sub>2</sub> entraînent la formation de 171 µg de CO<sub>2</sub>.g<sup>-1</sup> de sol sec sur une période de 16 jours. Les activités métaboliques extracellulaires permettent, sur la même période, la formation de 28 µg de CO<sub>2</sub>.g<sup>-1</sup> de sol sec. L'azote minéral dans ces sols varie peu. Pour le sol de référence, les activités métaboliques totales font varier l'azote minéral de 1 µg d'azote minéral.g<sup>-1</sup> de sol humide en 13 jours. Lorsque seules les activités métaboliques extracellulaires sont présentes, la quantité d'azote minéral augmente de 5 µg d'azote minéral.g<sup>-1</sup> de sol humide sur une période de 12 jours. La consommation d'oxygène, pour ces deux sols, est faible. Les activités métaboliques totales entraînent une consommation de 431 µg d'O<sub>2</sub>.g<sup>-1</sup> de sol sec en 16 jours alors que les activités métaboliques uniquement extracellulaires font une consommation de 73 µg d'O<sub>2</sub>.g<sup>-1</sup> de sol sec en 17 jours.

Pour les trois autres sols, représentés par le sol de Theix, les points initiaux et finaux présentent de plus grands écarts, sauf pour l'azote minéral. En effet, les activités métaboliques totales entraînent une émission de CO<sub>2</sub> de 336 µg de CO<sub>2</sub>.g<sup>-1</sup> de sol sec sur une période de 16 jours. Lorsque seules les activités métaboliques extracellulaires sont prises en compte, cette émission passe à 86 µg de CO<sub>2</sub>.g<sup>-1</sup> de sol sec en 17 jours. L'azote minéral, dans ce sol, augmente. Il passe de 59 à 61 µg d'azote minéral.g<sup>-1</sup> de sol humide en 13 jours lorsque les activités métaboliques sont totales alors qu'il va de 42 à 63 µg d'azote minéral.g<sup>-1</sup> de sol humide en 12 jours lorsque les activités métaboliques ne sont qu'extracellulaires. Enfin, la consommation d'oxygène des activités métaboliques totales est de 1298 µg d'O<sub>2</sub>.g<sup>-1</sup> de sol sec en 16 jours, cette consommation diminue à 215 µg d'O<sub>2</sub>.g<sup>-1</sup> de sol sec en 17 jours lorsque seules les activités métaboliques extracellulaires sont prises en compte.

Suite à la vérification des courbes de cinétique pour chaque sol, les sols ont été comparés selon les quatre paramètres testés (le CO<sub>2</sub>, l'O<sub>2</sub>, l'azote minéral et le carbone organique dissout) en fonction de leurs indices d'aridité.



**Figure 9 :** Contribution totale des métabolismes extracellulaires oxydatifs aux émissions de CO<sub>2</sub> en fonction de l'indice d'aridité des sols étudiés. Pour chaque sol, la contribution de l'EXOMET aux émissions de CO<sub>2</sub> est le résultat du ratio entre les activités métaboliques oxydatifs extracellulaires participant aux émissions de CO<sub>2</sub> au dernier temps d'incubation et les activités métaboliques totales au même temps d'incubation, ce ratio a été multiplié par 100 afin d'exprimer la valeur en pourcentage.



**Figure 10 :** Contribution totale des métabolismes extracellulaires oxydatifs à la consommation d'O<sub>2</sub> en fonction de l'indice d'aridité des sols étudiés. La contribution totale de l'EXOMET à la consommation d'O<sub>2</sub>, de chaque sol, est le résultat du ratio entre les activités métaboliques oxydatifs extracellulaires et les activités métaboliques totales au dernier temps d'incubation. Ce ratio est exprimé en pourcentage.

### **3 – La contribution des métabolismes oxydatifs extracellulaires liée aux minéralisations**

#### **3.1 – La contribution des métabolismes oxydatifs extracellulaires des émissions de CO<sub>2</sub> en fonction de l'indice d'aridité**

La contribution totale des métabolismes oxydatifs extracellulaires a été calculée pour tous les sols, elle représente le rapport entre les émissions de CO<sub>2</sub>, obtenues au dernier temps d'incubation (16 jours), par les métabolismes oxydatifs extracellulaires et celles dues aux activités métaboliques totales, multiplié par 100.

Le graphique de la **figure 9** représente la contribution des métabolismes oxydatifs extracellulaires participant aux émissions de CO<sub>2</sub> en fonction de l'indice d'aridité. Les sols du Botswana, situés à un indice d'aridité entre 0,10 et 0,18, présentent une contribution aux émissions de CO<sub>2</sub> allant de 7 à 12%. Les sols d'Espagne ont une contribution de l'EXOMET plus variable qui va de 7 à 28% pour un indice d'aridité allant de 0,28 à 0,42. Les sols de France ont de plus fortes contributions de l'EXOMET, mis à part les sols de Murvielle-lès-Montpellier et Pleyben qui n'ont qu'une contribution de 16 et 15%, les autres sols varient entre 25 et 32%.

La contribution des métabolismes oxydatifs extracellulaires participant aux émissions de CO<sub>2</sub> est faible lorsque l'indice d'aridité est faible, avec une moyenne de 9% pour les sols du Botswana, elle semble augmenter avec celui-ci ; la moyenne des sols de France est de 23%.

#### **3.2 – La contribution des métabolismes oxydatifs extracellulaires à la consommation en O<sub>2</sub> en fonction de l'indice d'aridité**

Dans cette expérience, la proportion de dioxygène lors de l'incubation des sols est connue, la consommation d'O<sub>2</sub> est donc la différence entre cette quantité connue et les quantités d'O<sub>2</sub> finales retrouvées dans les microcosmes. Parallèlement aux émissions de CO<sub>2</sub>, la contribution totale des métabolismes oxydatifs extracellulaires à la consommation d'O<sub>2</sub> (**Figure 10**) a été réalisée en suivant le même modèle.

Sur l'ensemble des points, un seul est bien distinct des autres, c'est le sol Bokspits au Botswana qui possède une contribution de l'EXOMET de 68%. Mis à part ce point, la contribution de l'EXOMET à la consommation d'O<sub>2</sub> fluctue de 9 à 37%, ces deux pourcentages

**Tableau 4 : Contribution des métabolismes extracellulaires oxydatifs à la minéralisation de l'azote en fonction de l'indice d'aridité.** Ce tableau représente la différence d'azote minéral entre le premier temps de prélèvement (T1) et le dernier temps de prélèvement (T3) pour chaque sol. Rni correspond à la formation d'azote minéral par les activités métaboliques totales, Rx représente cette formation par les métabolismes oxydatifs extracellulaires. La contribution de l'EXOMET = (Rx/Rni) x 100.

<i>Botswana</i>						
Nom de la région	Bokspits	Khawa	Middlepits	Phirima	Tsabong	Werda
Indice d'aridité	0,10	0,11	0,14	0,15	0,18	0,18
Temps	T3-T1	T3-T1	T3-T1	T3-T1	T3-T1	T3-T1
Rni (µg N minéral.g-1)	-0,2	6,3	5,0	3,4	3,6	3,6
Rx (µg N minéral.g-1)	0,4	1,5	0,8	1,8	1,6	1,4
<b>Contribution de l'EXOMET (en %)</b>	<b>-266,7</b>	<b>24,3</b>	<b>15,1</b>	<b>51,5</b>	<b>44,4</b>	<b>38,7</b>
<i>Espagne</i>						
Nom de la région	Carrascoy	Sierra espuña	Barrax	Ontigola	Villaroblede	Zorita
Indice d'aridité	0,28	0,32	0,35	0,36	0,36	0,36
Temps	T3-T1	T3-T1	T3-T1	T3-T1	T3-T1	T3-T1
Rni (µg N minéral.g-1)	4,7	7,8	9,0	7,8	-5,4	10,3
Rx (µg N minéral.g-1)	-8,0	12,9	12,8	16,3	24,8	20,5
<b>Contribution de l'EXOMET (en %)</b>	<b>-169,3</b>	<b>165,8</b>	<b>141,9</b>	<b>209,3</b>	<b>-460,5</b>	<b>198,8</b>
Nom de la région	Morata	Titulcia	Camporeal	Yecla	Huelves	
Indice d'aridité	0,38	0,38	0,39	0,40	0,42	
Temps	T3-T1	T3-T1	T3-T1	T3-T1	T3-T1	
Rni (µg N minéral.g-1)	4,0	6,6	-6,9	6,6	7,0	
Rx (µg N minéral.g-1)	15,3	9,7	4,3	12,5	-5,6	
<b>Contribution de l'EXOMET (en %)</b>	<b>379,5</b>	<b>146,4</b>	<b>-61,6</b>	<b>189,4</b>	<b>-80,4</b>	
<i>France</i>						
Nom de la région	Murvielle-lès-Montpellier	Roquetaillade	Theix	Pleyben	Brioude	
Indice d'aridité	0,60	0,69	1,20	1,61	1,91	
Temps	T3-T1	T3-T1	T3-T1	T3-T1	T3-T1	
Rni (µg N minéral.g-1)	1,1	-3,5	1,9	26,3	9,4	
Rx (µg N minéral.g-1)	5,6	18,5	21,0	7,3	21,4	
<b>Contribution de l'EXOMET (en %)</b>	<b>509,1</b>	<b>-529,3</b>	<b>1121,3</b>	<b>27,9</b>	<b>226,5</b>	

**Tableau 5 : La consommation de carbone organique dissous en fonction de l'indice d'aridité.** Ce tableau représente la différence de COD entre le deuxième temps de prélèvement (T2) et le premier temps de prélèvement (T1). Rni correspond à la consommation de COD par les activités métaboliques totales, Rx représente cette consommation par les métabolismes oxydatifs extracellulaires.

<i>Botswana</i>						
Nom de la région	Bokspits	Khawa	Middlepits	Phirima	Tsabong	Werda
Indice d'aridité	0,10	0,11	0,14	0,15	0,18	0,18
Temps	T1-T2	T1-T2	T1-T2	T1-T2	T1-T2	T1-T2
Rni (µg COD.g-1)	2,8	2,1	3,6	1,3	-0,8	-0,2
Rx (µg COD.g-1)	5,0	-1,1	12,7	10,9	-5,9	-5,1
<i>Espagne</i>						
Nom de la région	Carrascoy	Sierra espuña	Barrax	Ontigola	Villaroblede	Zorita
Indice d'aridité	0,28	0,32	0,35	0,36	0,36	0,36
Temps	T1-T2	T1-T2	T1-T2	T1-T2	T1-T2	T1-T2
Rni (µg COD.g-1)	17,8	7,1	-43,6	4,4	14,8	26,0
Rx (µg COD.g-1)	59,9	54,8	-90,7	60,4	43,1	-7,8
Nom de la région	Morata	Titulcia	Camporeal	Yecla	Huelves	
Indice d'aridité	0,38	0,38	0,39	0,40	0,42	
Temps	T1-T2	T1-T2	T1-T2	T1-T2	T1-T2	
Rni (µg COD.g-1)	6,4	5,1	9,0	20,2	10,6	
Rx (µg COD.g-1)	59,0	-39,2	-2,3	35,1	25,6	
<i>France</i>						
Nom de la région	Murvielle-lès-Montpellier	Roquetaillade	Theix	Pleyben	Brioude	
Indice d'aridité	0,60	0,69	1,20	1,61	1,91	
Temps	T1-T2	T1-T2	T1-T2	T1-T2	T1-T2	
Rni (µg COD.g-1)	8,5	5,2	6,3	4,7	12,4	
Rx (µg COD.g-1)	4,5	10,4	37,8	6,8	-13,8	

appartiennent à deux sols espagnols Sierra espuña (dont l'indice d'aridité est de 0,32) et Camporeal qui a un indice d'aridité de 0,39.

### 3.3 – La contribution des métabolismes oxydatifs extracellulaires à la formation d'azote minéral, en fonction de l'indice d'aridité

La contribution de l'EXOMET à la formation de l'azote minéral en fonction de l'indice d'aridité a été calculée (Tableau 4). Dans cette expérience, la quantité d'azote minéral lors de l'incubation des sols n'est pas connue. Pour chaque sol, la différence entre les quantités d'azote minéral du dernier et du premier temps a été faite, pour les deux types d'activités métaboliques : celle totale et celle ne comprenant que les métabolismes extracellulaires oxydatifs.

Les différences entre les quantités d'azote minéral peuvent être négatives, comme pour le sol de Bokspits dans la ligne correspondant aux activités métaboliques totales, ou positives, par exemple les deux types d'activité métabolique dans le sol de Brioude. L'augmentation de l'azote minéral n'est pas présente dans tous les sols, étant donné que dans le tableau six valeurs sont négatives.

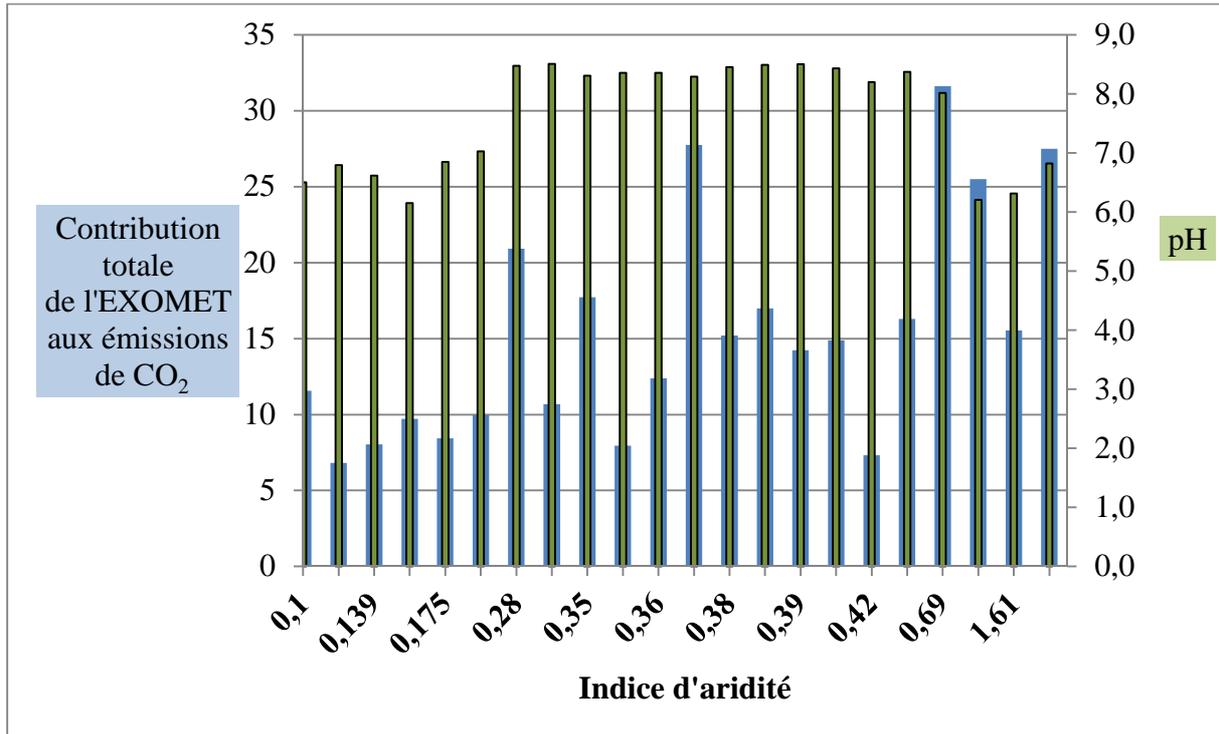
De plus, les taux de variation de cette quantité d'azote minéral sont faibles. Ils varient de 0,2 (la valeur absolue des activités métaboliques totales du sol de Bokspits) à 26,3  $\mu\text{g}$  d'azote minéral. $\text{g}^{-1}$  de sol en 13 jours (pour les activités métaboliques totales du sol de Pleyben).

Il en résulte que les contributions de l'EXOMET à la formation de l'azote minéral ne sont pas interprétables car les fluctuations entre les deux types de métabolisme sont peu importantes et peuvent être négatives.

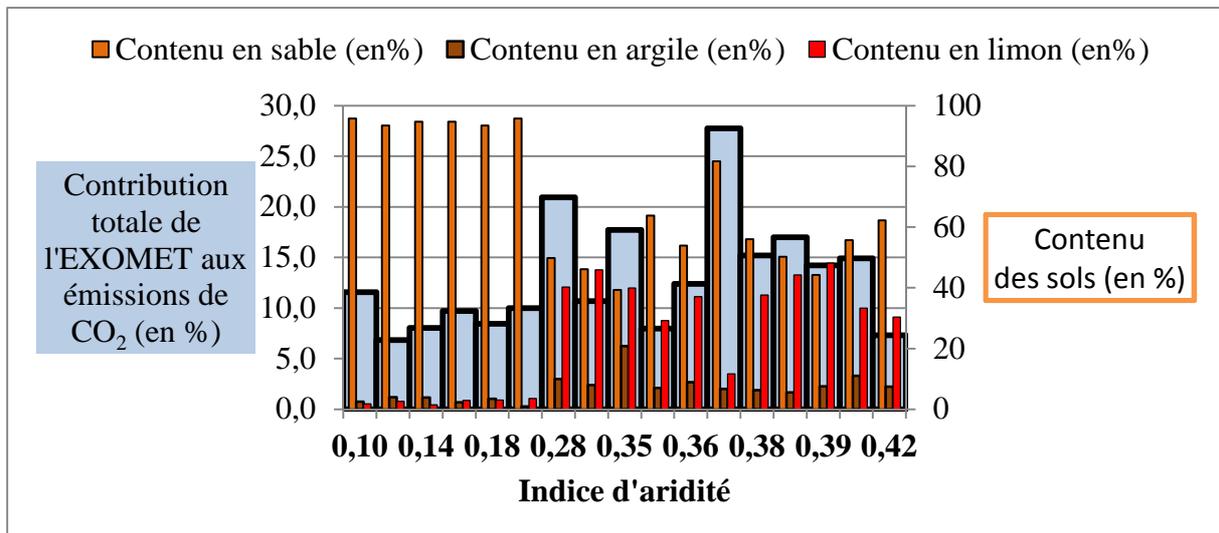
### 3.4 – La consommation du carbone organique dissous en fonction de l'indice d'aridité

La consommation de carbone organique dissous en fonction de l'indice d'aridité a également été faite (Tableau 5). La quantité de carbone organique dissous n'est pas fixée avant l'incubation des microcosmes, il en résulte que la différence entre les quantités de COD du premier et du deuxième temps a été faite, étant donné que, faute de temps, le dernier temps n'a pas pu être analysé pour les deux activités métaboliques.

Les sols présentent des augmentations et des diminutions de la quantité de COD. Les activités métaboliques totales intervenant dans la formation de COD correspondent aux trois



**Figure 11 :** La contribution totale de l'EXOMET aux émissions de CO<sub>2</sub> et le pH des sols en fonction de l'indice d'aridité. La contribution totale de l'EXOMET a été calculée par l'équation suivante :  $(R_x/R_{ni}) \times 100$ , où  $R_x$  correspond aux émissions totales de CO<sub>2</sub> par les métabolismes oxydatifs extracellulaires et  $R_{ni}$  représente cette émission par les activités métaboliques totales. Les histogrammes verts représentent le pH des sols.



**Figure 12 :** La contribution totale de l'EXOMET aux émissions de CO<sub>2</sub> et le pourcentage des matériaux composant le contenu des sols d'Espagne et du Botswana en fonction de l'indice d'aridité. Les histogrammes bleus représentent la contribution totale de l'EXOMET donc le rapport entre les émissions de CO<sub>2</sub> au dernier temps par les métabolismes oxydatifs extracellulaires et celles par les activités métaboliques totales. Les trois autres histogrammes sont le pourcentage de sable (en orange), d'argile (en marron) et de limon (en rouge) dans les sols du Botswana et d'Espagne.

valeurs négatives, pour les sols de Tsabong, Werda et Barrax, toutes les autres présentent une consommation de COD. Pour les métabolismes oxydatifs extracellulaires, huit valeurs sont négatives : celles des sols de Khawa, Tsabong, Werda, Barrax, Zorita, Titulcia, Camporeal et Brioude alors que les autres sols présentent des consommations de COD.

Une grande variation de la quantité de COD dans les sols est visible, la valeur absolue minimale est de  $0,2 \mu\text{g}$  de carbone organique dissous. $\text{g}^{-1}$  de sol en 12 jours et la valeur absolue maximale est de  $90,7 \mu\text{g}$  de carbone organique dissous. $\text{g}^{-1}$  de sol en 14 jours. Cette fluctuation n'est pas spécifique à un type d'activité métabolique. Pour les activités métaboliques totales, la valeur absolue minimale est de  $0,2 \mu\text{g}$  de carbone organique dissous. $\text{g}^{-1}$  de sol et celle maximale de  $43,6 \mu\text{g}$  de carbone organique dissous. $\text{g}^{-1}$  de sol. Pour les activités métaboliques oxydatives extracellulaires, les valeurs absolues vont de 1,1 à  $90,7 \mu\text{g}$  de carbone organique dissous. $\text{g}^{-1}$  de sol.

Dans la majorité des sols, la consommation de COD est visible malgré cela l'irradiation provoque un relargage important de COD, ce qui peut influencer l'expression de l'EXOMET.

#### **4 – La contribution des métabolismes oxydatifs extracellulaires influencée par d'autres paramètres**

Seules la contribution de l'EXOMET aux émissions de  $\text{CO}_2$ , calculée avant, est utilisée.

##### 4.1 – L'influence du pH sur les métabolismes oxydatifs extracellulaires

L'influence du pH sur la contribution de l'EXOMET aux émissions de  $\text{CO}_2$  est estimée (figure 11) afin de voir si une corrélation entre ces paramètres et l'indice d'aridité est visible.

Les pH des sols varient de 6 à 8,5. Les sols du Botswana de 0,10 à 0,18 ont un pH de l'ordre de 6,2 à 7 ; la contribution de l'EXOMET aux émissions de  $\text{CO}_2$  de ces sols va de 7 à 12%. Les sols d'Espagne ont un pH plus élevé (allant de 8,2 à 8,3) mais leur contribution varie énormément allant de 7 à 28%. Les sols de France ont un pH qui varie entre 6,2 et 8,4 et la contribution de l'EXOMET aux émissions de  $\text{CO}_2$  varie de 15 à 32%.

##### 4.2 – L'influence de la composition du sol sur les métabolismes oxydatifs extracellulaires

L'influence de la composition des sols sur la contribution de l'EXOMET aux émissions de  $\text{CO}_2$  en fonction de l'indice d'aridité a également été analysée (figure 12). La composition



des sols est représentée en fonction du pourcentage des trois matériaux (sable, argile et limons) des sols d'Espagne et du Botswana, les sols de France n'ayant pas pu être analysés.

Pour tous les sols, le sable constitue une part importante de leur composition. Il varie de 39 à 95%, le pourcentage en argile va de 0,9 à 21%, les limons fluctuent entre 1,4 à 48%. Les sols du Botswana ont un pourcentage de sable très élevé (supérieur à 90%), tandis que dans les sols d'Espagne le pourcentage varie de 39 à 81%. Les sols riches en sable, ceux du Botswana, ont de 1,4 à 3,9% de limons et en moyenne 2,8% d'argile alors que les sols espagnols, moins riches en sable, comprennent 11 à 48% de limons et 5,5 et 20,7% d'argile.

La contribution de l'EXOMET aux émissions de CO<sub>2</sub> varie de 7 à 28%. Les sols du Botswana ont une contribution moyenne de 9%±2% alors que la contribution moyenne de l'EXOMET aux émissions de CO<sub>2</sub> dans les sols espagnols est de 15%±6%.



## DISCUSSION

---

### 1 – Le modèle des flux de matière de carbone dans le sol impliqués dans les métabolismes intracellulaires et extracellulaires

L'équation permet de voir que seule l'influence de l'aridité sur la biomasse microbienne joue un rôle, il faudra donc quantifier la biomasse microbienne dans les sols. De plus, elle met bien en valeur l'importance de quantifier les deux types de respiration et la quantité de matière organique des sols pour les deux types de métabolismes. A ces analyses s'ajoutent celles pour l'azote, à savoir la quantité d'azote total et la quantité d'azote minéral dans chaque sol pour les deux types de métabolismes.

### 2 – L'analyse des courbes de cinétique

Pour chaque sol, les courbes de cinétique ont été réalisées afin de vérifier la présence d'une consommation d'oxygène et l'émission de dioxyde de carbone et de constater la présence d'une augmentation ou d'une diminution de l'azote minéral et du COD.

Les sols du Botswana ne présentent pas de minéralisation de l'azote pour les deux types de métabolismes car les courbes ne présentent pas de variations. De plus, ces sols sont peu actifs, ils émettent peu de carbone sous forme de CO<sub>2</sub>, malgré cela un métabolisme oxydatif extracellulaire est présent et représente un dixième de l'activité métabolique totale de ces sols.

Les sols d'Espagne ont également des métabolismes oxydatifs extracellulaires qui présentent une activité de minéralisation du carbone, même si celle-ci semble faible. En revanche, les courbes sur la minéralisation de l'azote ont des allures variables, présentant surtout des augmentations mais également des diminutions (pour deux sols) de la quantité d'azote minéral dans les sols. L'augmentation de la quantité d'azote dans les sols varie mais ne permet pas de conclure la présence de fortes minéralisations, qu'elles soient issues des activités métaboliques totales ou uniquement des métabolismes oxydatifs extracellulaires.

En France, deux types de réponses sont visibles. Le sol de Murvielle-lès-Montpellier et celui de Roquetaillade présentent une minéralisation du carbone faible pour les deux types de métabolismes, en revanche la minéralisation de l'azote semble très faible voire inexistante. Dans les trois autres sols, la minéralisation du carbone est plus marquée. Ces sols présentent des activités métaboliques plus importantes et ce pour les deux types de métabolismes. Les résultats acquis pour le sol de Theix ont été comparés avec des résultats préliminaires obtenus



au laboratoire afin de vérifier si la minéralisation du carbone était identique. La minéralisation de l'azote, en revanche, reste faible.

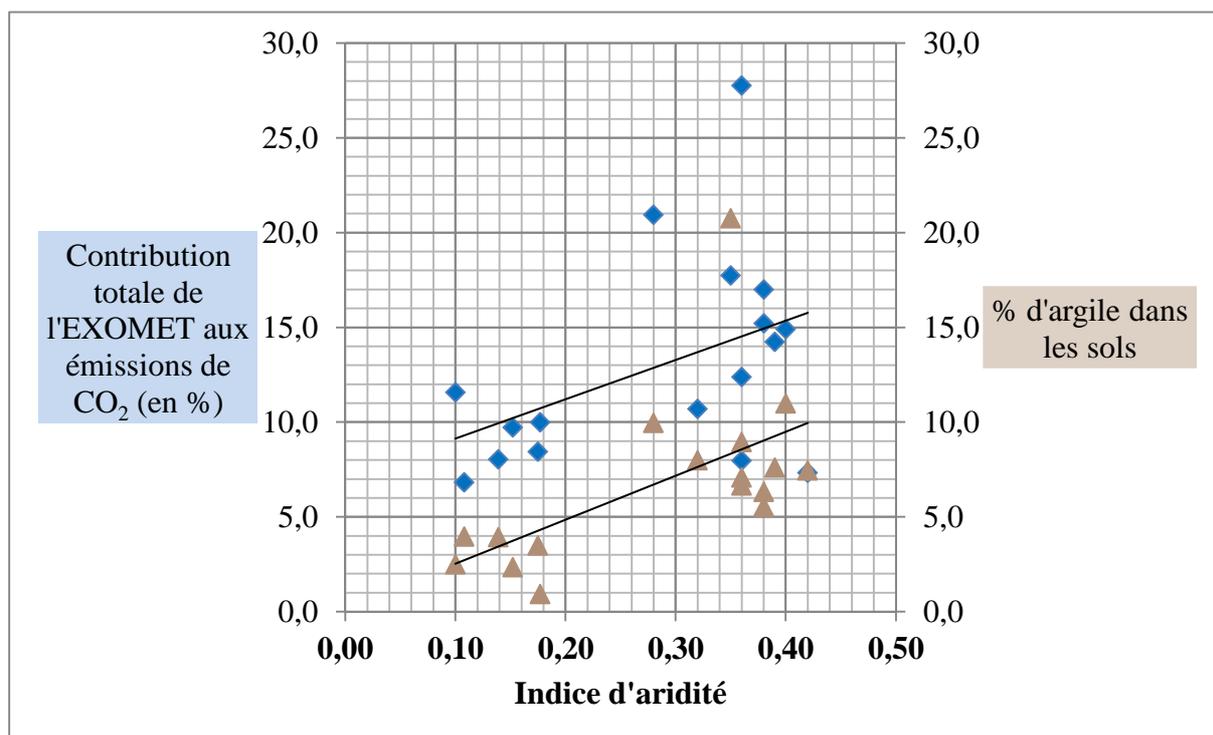
En définitive, une consommation d'oxygène en parallèle à une émission de CO<sub>2</sub> a toujours pu être constatée. De plus, pour tous les sols, la minéralisation du carbone, qu'elle soit totale ou EXOMET, semble être présente mais varie en terme d'intensité alors que la minéralisation de l'azote ne semble pas être très active sur une période de 18 jours.

### **3 – La contribution des métabolismes oxydatifs extracellulaires liées aux minéralisations**

Sur les quatre paramètres testés, seule la contribution des métabolismes oxydatifs extracellulaires participant aux émissions de CO<sub>2</sub> semble avoir une corrélation avec l'indice d'aridité. Un indice d'aridité faible présente une faible contribution de l'EXOMET, cette contribution augmenta avec l'indice d'aridité. Il en résulte que plus les sols sont arides moins l'EXOMET contribue aux activités métaboliques totales. Ce résultat infirme l'hypothèse de départ qui soutenait une augmentation de l'EXOMET dans les sols arides. L'augmentation de la part de ces métabolismes dans les milieux naturellement plus humides laisse penser que d'autres paramètres contrôlent ces métabolismes.

La minéralisation de l'azote n'a pas pu être constatée dans ces sols durant une incubation de 18 jours, elle avait pourtant été constatée par M. Delgado-Baquerizo *et al.* au bout de 14 jours d'incubation. Dans cette étude, les auteurs avaient placé leurs sols à une capacité de rétention d'eau à 80% alors qu'ici tous les sols ont été mis à un même potentiel hydrique (-100KPa). Il en résulte donc que leurs pourcentages d'humidité varient de 1 à 2% pour les sols du Botswana, de 9 à 20% pour les sols d'Espagne et de 18 à 33% pour ceux de France. Un temps d'incubation plus long aurait également pu permettre de constater la minéralisation de l'azote, dans sa publication J. Deenik calcule l'azote minéral cumulé dans 5 sols hawaïens sur une période de 312 jours, dans les premiers temps les différences sont peu visibles sur les courbes mais elles deviennent plus notables au bout de 50 jours.

Ici, la complexité des résultats est révélatrice de la diversité des milieux. Le seul résultat suivant l'indice d'aridité est remarquable sur l'émission de CO<sub>2</sub>, plus l'humidité dans les sols augmente plus la contribution de l'EXOMET augmente. La minéralisation de l'azote ne semble pas avoir lieu mais le temps d'incubation ou le contenu en eau du sol peuvent être des explications possibles.



**Figure 13 :** La contribution totale de l'EXOMET aux émissions de CO<sub>2</sub> et le pourcentage d'argile des sols d'Espagne et du Botswana en fonction de l'indice d'aridité. Les losanges bleus représentent la contribution totale de l'EXOMET aux émissions de CO<sub>2</sub>, c'est le rapport entre les émissions de CO<sub>2</sub> dues aux métabolismes oxydatifs extracellulaires sur celles dues aux activités métaboliques totales obtenues au dernier temps. Les triangles marron représentent le pourcentage d'argile dans les sols du Botswana et d'Espagne. Des courbes de régressions linéaires pour ces deux variables ont été tracées.

## 4 – La contribution des métabolismes oxydatifs extracellulaires influencée par d'autres paramètres

Dans le but d'estimer l'influence d'autres paramètres tels que le pH et la composition, ceux-ci ont été comparés à la contribution de l'EXOMET aux émissions de CO<sub>2</sub>.

Les différences de pH n'expliquent pas les variations de la contribution de l'EXOMET. Pour un même pH (6,2), cette contribution diffère entre le sol de Phirima où elle est à 10% et celui de Theix qui est à 25%. Parallèlement à cela, leurs indices d'aridité diffèrent également car Phirima a un indice d'aridité de 0,15 alors que celui de Theix est à 1,20.

Le second facteur analysé est la composition du sol. Les sols de France n'ayant pas été analysés, seuls les sols d'Espagne et du Botswana ont pu être comparés. Tous ces sols sont à dominante sableuse. Afin de vérifier une corrélation, chaque constituant du sol a été comparé aux contributions de l'EXOMET aux émissions de CO<sub>2</sub> en fonction de l'indice d'aridité. Mis à part le point à 20% représentant le sol de Barrax, l'argile ([figure 13](#)) et la contribution de l'EXOMET semblent avoir une tendance commune. Les courbes de régressions linéaires représentant la contribution de l'EXOMET et le pourcentage d'argile augmentent avec l'indice d'aridité. L'argile est reconnue dans la littérature pour favoriser la fixation des enzymes extracellulaires car ces minéraux sont des complexes adsorbants [R. Calvet]. A long terme, le climat définit la formation de l'argile *via* l'action de l'eau, des températures et du vent [L. Citeau *et al.*], ceci pourrait expliquer une plus importante présence d'argile dans les sols les plus riches en eau. L'analyse des sols de France permettra de déterminer si l'argile augmente la contribution de l'EXOMET aux émissions de CO<sub>2</sub> *via* une meilleure fixation des enzymes extracellulaires ou si ces deux paramètres augmentent avec un climat plus humide (où l'indice d'aridité augmente).



## CONCLUSION GENERALE, PERSPECTIVES

---

Suite à la publication de V. Maire, l'EXOMET a été proposé comme une nouvelle vision de la minéralisation du carbone dans les sols. Afin d'élargir ces travaux au cycle de l'azote et de chercher à voir sa contribution aux fonctionnements des écosystèmes, nous avons quantifié les variations de différents flux de matières selon un gradient d'aridité.

Dans chaque sol, l'EXOMET était présent et participait aux émissions de CO<sub>2</sub>. Dans cette expérience, la minéralisation de l'azote et la consommation du COD n'ont pas pu être mises en évidence. Sur les paramètres testés, seule la minéralisation du carbone *via* l'émission de CO<sub>2</sub> présente une corrélation avec l'indice d'aridité car la contribution de l'EXOMET aux émissions de CO<sub>2</sub> augmente avec l'augmentation de cet indice, autrement dit l'EXOMET est plus important dans les sols exposés à un climat humide.

Par la suite, deux autres paramètres ont été testés en parallèle à la contribution de l'EXOMET aux émissions de CO<sub>2</sub>. Si le pH des sols n'influence pas cette contribution, le pourcentage en argile constituant les sols semble avoir une influence. Afin de confirmer celle-ci, l'analyse de la composition des sols de France va être effectuée.

Plusieurs perspectives peuvent être envisagées. D'un point de vue méthodologique, l'analyse de la quantité d'azote minéral et de COD avant l'incubation des sols aurait pu permettre une meilleure interprétation des résultats. De plus, l'incubation d'une quantité de sol plus importante sur une période de temps plus longue serait une piste intéressante afin de vérifier les résultats obtenus. Pour approfondir ces résultats, une expérience, où suite à leur séparation, les trois différentes fractions composant les sols seraient incubées selon le protocole utilisé ici, permettrait d'affirmer ou d'infirmer l'importance de l'argile dans la contribution de l'EXOMET aux émissions de CO<sub>2</sub>.

A plus long terme, une analyse par protéomique du sol permettrait de s'assurer que l'émission de CO<sub>2</sub> n'est pas due à un procédé physico-chimique mais résulte bien de l'intervention de protéines. De plus, un marquage de molécule azoté avec du <sup>15</sup>N pourrait permettre de mieux appréhender la minéralisation de l'azote dans les sols. L'analyse d'autres milieux tels que les sédiments marins, l'eau ou encore de milieux particuliers comme celui des permafrosts favoriserait la généralisation de l'EXOMET.



## RÉFÉRENCES

---

- Amundson, R. 2001. The carbon budget in soils. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* 29:532-562.
- Austin, A. T., L. Yahdjian, J. M. Stark, J. Belnap, A. Porporato, U. Norton, D. A. Ravetta and S. M. Schaeffer 2004. Water pulses and biogeochemical cycles in arid and semiarid ecosystems. *Oecologia* 141:221-235.
- Bardgett, R. D. 2005. *The Biology of Soil, a community and ecosystem approach*. Editor : Oxford University Press Inc. Pages : 58-62.
- Bhat, M. K. and S. Bhat 1997. Cellulose degrading enzymes and their potential industrial applications. *Biotechnology Advances* 15:583-620.
- Burns, R. G., J. L. DeForest, J. Marxsen, R. L. Sinsabaugh, M. E. Stromberger, M. D. Wallenstein, M. N. Weintraub and A. Zoppini 2013. Soil enzymes in a changing environment : Current knowledge and future directions. *Soil Bio. Biochem.* 58:216-234.
- Butterbach-Bahl, K. and P. Gundersen 2011. *Nitrogen processes in terrestrial ecosystems*. Editors : Cambridge University Press. Pages : 99–125.
- Calvet, R 2003. *Le sol : Propriétés et fonctions, Tome 1 : Constitution et structure, phénomènes aux interfaces*. Editors : France Agricole. Pages : 364.
- Castro, H. F., A. T. Classen, E. E. Austin, R. J. Norby and C. W. Schadt 2010. Soil microbial community responses to multiple experimental climate change drivers. *Appl. Environ. Microbiol.* 76:999-1007.
- Cébron A. 2004. *Nitrification, bactéries nitrifiantes et émissions de N<sub>2</sub>O*. Thèse de doctorat de l'Université Paris VI – Pierre et Marie Curie. Pages : 58-63.
- Citeau, L., A. Bispo, M. Bardy and D. King 2008. *Gestion durable des sols*. Editions Quae. Pages : 29-32.
- Davet P. 1996. *Vie microbienne du sol et production végétale*. Editors : INRA Editions (Paris). Pages : 99-121 and 135-165.
- Deenik, J. 2006. Nitrogen mineralization potential in important agricultural soils of Hawaiï. *Soil Crop Manag.* 15:1-8.
- Delgado-Baquerizo, M., F. T. Maestre, A. Gallardo, M. A. Bowker, M. D. Wallenstein, J. L. Quero, V. Ochoa, B. Gozalo, M. García-Gómez, S. Soliveres, P. García-Palacios, M. Berdugo, E. Valencia, C. Escolar, T. Arredondo, C. Barraza-Zepeda, D. Bran, J. A. Carreira, M. Chaieb, A. A. Conceição, M. Derak, D. J. Eldridge, A. Escudero, C. I. Espinosa, J. Gaitán, M. G. Gatica, S. Gómez-González, E. Guzman, J. R. Gutiérrez, A. Florentino, E. Hepper, R. M. Hernández, E. Huber-Sannwald, M. Jankju, J. Liu, R. L. Mau, M. Miriti, J. Moneris, K. Naseri, Z. Noumi, V. Polo, A. Prina, E. Pucheta, E. Ramírez, D. A. Ramírez-Collantes, R. Romão, M. Tighe, D. Torres, C. Torres-Díaz, E. D. Ungar, J. Val, W. Wamiti, D. Wang and E. Zaady 2013. Decoupling of soil nutrient cycles as a function of aridity in global drylands. *Nature* 502:672-676



- Fontaine, S., C. Henault, A. Aamor, N. Bdioui, J. M. G. Bloor, V. Maire, B. Mary, S. Revaillet and P. A. Maron 2010. Fungi mediate long term sequestration of carbon and nitrogen in soil through their priming effect. *Soil Bio. Biochem.* 43:86-96.
- Geider, R. J., E. H. Delucia, P. G. Falkowski, A. C. Finzi, J. P. Grime, J. Grace, T. M. Kana, J. La Roche, S. P. Long, B. A. Osborne, T. Platt, I. C. Prentice, J. A. Raven, W. H. Schlesinger, V. Smetacek, V. Stuart, S. Sathyendranath, R. B. Thomas, T. C. Vogelmann, P. Williams and F. I. Woodward 2001. Primary productivity of planet earth: biological determinants and physical constraints in terrestrial and aquatic habitats. *Global Change Biology* 7:849-882.
- Geisseler, D., W. R. Horwath, R. G. Joergensen and B. Ludwig 2010. Pathways of nitrogen utilization by soil microorganisms – a review. *Soil Bio. Biochem.* 42:2058-2067.
- Henry, H. A. L. 2011. Soil extracellular enzyme dynamics in a changing climate. *Soil Bio. Biochem.* 47:53-59.
- Higuchi, T. 2004. Microbial degradation of lignin : Role of lignin peroxidase, manganese peroxidase, and laccase. *Proc Jpn Acad., Ser. B* 80:204–14.
- Houghton, J. T., Y. Ding, D. J. Griggs, M. Noguer, P. J. van der Linden, X. Dai, K. Maskell and C. A. Johnson 2001. *Climate Change 2001 : The scientific basis*. Editors : Cambridge University Press. Pages : 2-21.
- Jenkinson, D. S., and D. S. Powlson 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil-I. Fumigation with chloroform. *Soil Bio. Biochem.* 8:167-177.
- Kaiser, C., O. Franklin, U. Dieckmann and A. Richter 2014. Microbial community dynamics alleviate stoichiometric constraints during litter decay. *Ecology letters* 17:680-690.
- Lelièvre, F., S. Sala, F. Ruget and F. Volaire 2011. Evolution climatique du Sud de la France 1950-2009, Projet CLIMFOUREL PSDR-3, Régions L-R, M-P, R-A. Série Les Focus PSDR3.
- Lensi, R., C. Lescure, C. Steinberg, J. M. Savoie and G. Faurie 1990. Dynamics of residual enzyme activities, denitrification potential, and physico-chemical properties in a  $\gamma$ -sterilized soil. *Soil Biol. Biochem.* 23:367-373.
- Maire, V., G. Alvarez, J. Colombet, A. Comby, R. Despinasse, E. Dubreucq, M. Joly, A.-C. Lehours, V. Perrier, T. Shahzad and S. Fontaine 2013. An unknown oxidative metabolism substantially contributes to soil CO<sub>2</sub> emissions. *Biogeosciences* 10:1155-1167.
- Muruganandam, S., D. W. Israel and W. P. Robarge 2008. Activities of nitrogen-mineralization enzymes associated with soil aggregate size fractions of three tillage systems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 73:751-759.
- Or, D., B. F. Smets, J. M. Wraith, A. Dechesne and S. P. Friedman 2006. Physical constraints affecting bacterial habitats and activity in unsaturated porous media – a review. *Advances in Water Resources* 30:1505–1527.
- Pietikäinen, J., M. Pettersson et E. Baath 2004. Comparaison of temperature effects on soil respiration and bacterial and fungal growth rates. *FEMS Microbiology Ecology* 52:49-58.



- Prescott, L. M., J. Harley and D. Klein 2003. *Microbiologie* (2<sup>e</sup> édition française). Editors : De Boeck Université. Pages : 172-190.
- Raich, J. W. and C. S. Potter 1995. Global patterns of carbon dioxide emissions from soils. *Glob. Biogeochem. Cycles* 9:23-36.
- Rustad, L. E., J. L. Campbell, G. M. Marion, R. J. Norby, M. J. Mitchell, A. E. Hartley, J. H. C. Cornelissen, J. Gurevitch and GCTE-NEWS 2000. A meta-analysis of the response of soil respiration, net nitrogen mineralization, and aboveground plant growth to experimental ecosystem warming. *Oecologia* 126:543-562.
- Schlesinger, W. H., and J. A. Andrews 1999. Soil respiration and the global carbon cycle. *Biogeochemistry* 48:7-20.
- Sinsabaugh, R. L. 2010. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. *Soil Bio. Biochem.* 42:391-404.
- Sinsabaugh R. L. and J. J. Follstad Shah 2012. Ecoenzymatic stoichiometry and ecological theory. *Annu. Rev. Evol. Syst.* 43:313-343.
- Vance, E. D., P. C. Brookes and D. S. Jenkinson 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Bio. Biochem.* 19:703-707.
- Wang, Y., Y. Hao, X. Y. Cui, H. Zhao, C. Xu, X. Zhou and Z. Xu 2013. Responses of soil respiration and its components to drought stress. *J. Soils Sediments* 14:99-109.
- Winslow, M., B. I. Shapiro, R. Thomas and S. V. R. Shetty 2004. *Desertification, Drought, Poverty and Agriculture: Research Lessons and Opportunities.* ” [Joint publication: International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), the International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT), and the United Nations Convention to Combat Desertification's (UNCCD) Global Mechanism, Rome, Italy, 2004].

