



HAL
open science

Cycles biogéochimiques dans les écosystèmes terrestres: de la compréhension à l'écoconception dans un contexte de changement global

Sébastien Fontaine

► **To cite this version:**

Sébastien Fontaine. Cycles biogéochimiques dans les écosystèmes terrestres: de la compréhension à l'écoconception dans un contexte de changement global. Sciences du Vivant [q-bio]. Université Paris Sorbonne (Paris 4), 2019. tel-02790645

HAL Id: tel-02790645

<https://hal.inrae.fr/tel-02790645v1>

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.



UFR Terre, Environnement, Biodiversité

Habilitation à Diriger des Recherches

Présentée par

Sébastien Fontaine

Chargé de Recherche à l'UMR Ecosystème Prairial

INRA de Clermont Ferrand

Titre du mémoire

Cycles biogéochimiques dans les écosystèmes terrestres: de la compréhension à l'écoconception dans un contexte de changement global

Soutenue le 16 juillet 2019

Devant le jury composé de

ABBADIE Luc	Professeur Sorbonne Université	Président de Jury
RECOUS Sylvie	Directrice de Recherche INRA	Rapporteur
AUBERT Michael	Professeur Université Rouen	Rapporteur
LE ROUX Xavier	Directeur de Recherche INRA	Rapporteur
HATTÉ Christine	Chercheuse CEA	Examineur
WIPF Daniel	Professeur Université Bourgogne	Examineur

Remerciements

C'est carnaval aujourd'hui ! J'ai terminé la rédaction de mon manuscrit d'HDR et rassemblé un jury avec qui il me presse de partager et débattre toutes ces idées. Merci à vous membre du jury d'avoir accepté mon invitation avec enthousiasme.

Il m'a parfois été conseillé d'écrire rapidement cette HDR car l'enjeu est ailleurs, ce qui n'est pas entièrement faux. Mais à quoi bon consacrer son temps de vie à une tâche si le résultat ne vous satisfait pas.

Au final j'ai pris un certain plaisir à rédiger ce manuscrit. J'ai assouvi ma curiosité en réalisant une analyse bibliographique sur la paléoclimatologie et la paléoécologie qui ne sont pas des thématiques centrales dans mes recherches mais permettent de resituer l'action de l'Homme dans une histoire biogéochimique riche de la planète. En rédigeant la synthèse de résultats j'ai ravivé le souvenir de toutes ces aventures scientifiques et humaines passées à Clermont, Montpellier, Paris, en Guyane, au Chili, etc. Génialissime ! La vie m'a offert des rencontres formidables. Et je ne pense pas seulement aux caïmans et perroquets taciturnes de Guyane. Mais à toutes ces personnes qui vous feraient encore croire en l'humanité malgré tout le reste. Des trésors d'ingéniosité et de compétences qui avec 1% du budget de recherche d'Amazonie résoudre bien des problèmes de base de nos sociétés.

Dans le désordre (techniciens, chercheurs, étudiants...) et la bonne humeur, merci à Gaël, Benoit, Sébastien, Sandrine, Eric, Anne-Catherine, Jonathan, Alain, Christian, Robert, Vincent x 2, Nico, Julien, Bruno, Tanvir, Nazia, Camille, Delphine, Carolina, Rara, Yassine, Nadia, Frédérique, Frida, Laurence, Yvonick, Pierre, Michel, etc.

Sachez que je me rappelle avec délice ces moments partagés sous un soleil de plomb, dans le froid climatisé du Laboratoire, pendant des nuits sans dormir, dans des laboratoires inconnus dont les portes se sont ouvertes sans aucune paperasserie ou intérêt mais juste pour la curiosité de la science, à écrire des pages d'équations, à ne plus savoir quel niveau d'intégration mathématique on se trouvait...

Enfin, c'est dans une excitation partagée avec mes collègues que j'ai construit ce projet sur l'auto-organisation des écosystèmes et l'éco-conception de nouveaux systèmes de culture, projet qui devrait m'occuper pour quelques dizaines d'années selon les oracles les plus fiables.

Merci à Saturnin et Aglaé, mes deux enfants, qui ont vécu la rédaction de cette HDR et ont encouragé leur père à leur façon, avec beaucoup d'humour. Sachez que nous sommes quelques-uns à se décarcasser pour vous éviter un avenir trop merdique (pas gagné). Merci à Elisabeth pour sa patience et ses encouragements. Et à ma famille toujours là quelques soient les expériences de la vie.

RESUME

La terre a traversé plus de 4 milliards d'années en gardant à sa surface des températures compatibles avec la vie la plupart du temps. Le cycle géologique du carbone au travers l'érosion des roches et des éruptions volcaniques contribue avec d'autres processus à réguler le climat. Cependant, à travers le temps, la co-évolution entre les organismes vivants et leur environnement aboutit parfois à des ruptures de la chimie de l'atmosphère (gaz à effet de serre, GES) et du climat entraînant une extinction des espèces. Ainsi l'Homme peut être vu comme la dernière innovation technique de l'évolution en passe de provoquer un accident climatique et écologique global. La combustion d'énergie fossile et l'agriculture ont fait passer la teneur en CO₂ atmosphérique, principal GES, de 280 à 400 ppm en 150 ans avec des conséquences visibles sur les glaciers, le climat et le niveau des mers. Ces modifications anthropiques s'accompagnent d'une chute de la biodiversité. Les prévisions pour le 21^{ème} siècle prévoient une accélération des émissions de GES et des événements climatiques extrêmes qui devraient entraîner des déplacements de populations et des conflits. Cependant, à l'inverse des autres espèces par le passé, l'Homme a la capacité de prendre conscience de ces changements et d'en corriger la trajectoire. Outre, les défis socioéconomiques que posent le changement climatique et qui ne sont pas le sujet de ce manuscrit, l'Homme a besoin de connaissances sur le fonctionnement des écosystèmes en lien avec la biodiversité afin d'anticiper les effets du réchauffement et de disposer de leviers d'actions.

Ce manuscrit d'HDR résume quinze années de recherche sur les cycles biogéochimiques des écosystèmes terrestres dans un contexte de changement climatique et de développement d'une agriculture durable. Mes travaux de recherche ont contribué à 1) explorer les métabolismes et les facteurs contrôlant les flux de carbone et d'azote, en particulier dans le sol et la rhizosphère des plantes, 2) identifier les stratégies de vie des microorganismes décomposeurs et des plantes au regard de ces cycles et 3) une analyse systémique des échanges de matière entre les organismes vivants afin de comprendre les cascades d'effet et les boucles de rétroactions. La finalité première de mes recherches est de prévoir l'impact des changements globaux (réchauffement climatique, chimie de l'atmosphère et modèles agricoles) sur les services écosystémiques adossés aux processus biogéochimiques (productions, stockage de carbone...).

Les résultats indiquent une capacité des sols des écosystèmes peu perturbés et diversifiés (prairies permanentes, forêts) à accumuler des matières organiques créant un puits de carbone. Le stockage de carbone dans les sols n'augmente pas nécessairement avec les entrées de carbone, il peut même diminuer. Ainsi l'augmentation de la production primaire sous CO₂ élevé n'augmentera pas ou peu le puits de carbone. Cependant, les retombées d'azote atmosphérique, la fixation symbiotique et la dégradation des roches par les mycorhizes devraient intensifier le puits de carbone en levant les contraintes stœchiométriques (azote, phosphore) des plantes et des microorganismes stockeurs de carbone du sol. Le transfert du carbone organique du sol dans les horizons profonds permet un stockage de celui-ci pendant des millénaires dans certaines conditions. Cependant, un changement de profondeur d'enracinement des végétaux peut soudainement réactiver sa minéralisation en CO₂ par les microorganismes de la rhizosphère.

Mes investigations ont mis en lumière le paradoxe de la synchronisation entre l'offre microbienne en nutriments minéraux et la demande des végétaux dans les écosystèmes naturels. Défi majeur en l'agriculture, cette synchronisation a très peu de chances de se produire de manière spontanée puisqu'elle dépend de deux organismes indépendants dont les réponses à l'environnement diffèrent. Un mécanisme de régulation ajustant l'offre à la demande a été identifié : deux groupes fonctionnels microbiens créent un tapis roulant de nutriments minéraux sur lequel se nourrit la plante. De cette façon de grandes quantités de nutriments peuvent être transférée du sol à la plante tout en évitant les pertes par lessivage et dénitrification. Il semblerait que les cultures annuelles aient perdu ce mécanisme de synchronisation offre-demande expliquant leur piètre performance environnementale. Cependant, l'association d'un blé avec des plantes pérennes a permis de rétablir la synchronisation offre-demande et les services qui lui sont associés.

Ces résultats suggèrent de nouvelles pistes de recherche. La biodiversité contribuerait à créer des systèmes auto organisés où les échanges de matière sont optimisés afin de garantir la pérennité des parties et une utilisation de l'énergie lumineuse maximisée dans le temps. Elle pourrait également contribuer à adapter les écosystèmes aux évolutions climatiques. Ainsi le rôle de la coopération entre les organismes vivants dans le processus de sélection naturelle et le fonctionnement des écosystèmes pourrait être largement sous-estimé. S'inspirant de ces nouvelles connaissances, des nouveaux systèmes de culture bio-diversifiés et à hautes performances environnementales peuvent être conçus.

ABSTRACT

The earth has passed more than 4 billion years, keeping on its surface temperatures compatible with life most of the time. The geological cycle of carbon through erosion of rocks and volcanic eruptions contributes with other processes to regulate the climate. However, over time, the co-evolution between living organisms and their environment sometimes leads to breaks in the chemistry of the atmosphere (greenhouse gases, GHGs) and climate leading to species extinction. Humans can be seen as the latest technical innovation of evolution causing a global climatic and ecological accident. The combustion of fossil fuels and agriculture has increased the atmospheric CO₂ concentration, the main GHG, from 280 to 400 ppm in 150 years with visible consequences on glaciers, climate and sea levels. These global changes are accompanied by a drop in biodiversity. Forecasts for the 21st century predict an acceleration of GHG emissions and extreme weather events that should lead to population displacements and conflicts. However, unlike other species in the past, humans have the capacity to become aware of these changes and to correct their trajectory. In addition to the socio-economic challenges posed by climate change, which are not the subject of this manuscript, humans need knowledge on the functioning of ecosystems in relation to biodiversity in order to anticipate the effects of global warming and to levers of action.

This HDR manuscript summarizes fifteen years of research on the biogeochemical cycles of terrestrial ecosystems in the context of climate change and the development of sustainable agriculture. My research has helped to 1) explore the metabolisms and factors controlling carbon and nitrogen fluxes, especially in the soil and plant rhizosphere, 2) identify the life strategies of microorganisms and plants vis-à-vis of biochemical cycles and 3) a systemic analysis of the exchange of matter between living organisms to understand the cascade effects and the feedback loops. The applications of my research are to 1) improve the predictions on the impact of global changes (global warming, atmospheric chemistry and agricultural models) on ecosystem services backed by biogeochemical processes (production, carbon storage ...), 2) optimize the managements of grasslands and their services and 3) eco-design new grain production system inspired from the functioning of permanent grasslands.

The results indicate a capacity of undisturbed biodiverse ecosystems (permanent grasslands, forests) to continuously accumulate organic matter in soil creating a global carbon sink. Carbon storage in soils does not necessarily increase with carbon inputs, it can even decrease. Thus, the increase in primary production in response to the rising atmospheric CO₂ concentration will not increase the soil carbon sink. However, atmospheric nitrogen deposition, symbiotic fixation, and mycorrhizal degradation of rocks are expected to intensify the soil carbon sink by alleviating the stoichiometric constraints (nitrogen, phosphorus) of plants and soil-carbon-storing microorganisms. The transfer of organic carbon into deep soil horizons allows storage of this carbon for millennia under specific conditions. However, a change in rooting depth of plants can suddenly reactivate its mineralization in CO₂ by microorganisms of the rhizosphere.

My investigations have highlighted the paradox of the synchronization between the microbial supply of mineral nutrients and the demand of plants in natural ecosystems. Representing a major challenge in agriculture, this synchronization is unlikely to occur spontaneously since it depends on two separate organisms whose responses to environment factors differ. A regulating mechanism that adjusts supply to demand has been identified: two microbial functional groups create a conveyor belt of mineral nutrients on which the plant feeds. In this way large amounts of nutrients can be transferred from the soil to the plant while avoiding leaching and denitrification losses. It seems that annual crops have lost this supply-demand synchronization mechanism, which explains their poor environmental performance. However, the combination of a wheat with perennial plants has restored the synchronization supply-demand and services associated with it.

These results suggest new lines of research. Biodiversity would help to create self-organized systems where exchanges of matter are optimized to ensure the durability of the parties and a maximal use of light energy. It could also contribute to adapting ecosystems to climate change. Thus the role of cooperation between living organisms in the process of natural selection and the functioning of ecosystems could be largely underestimated. Inspired by this knowledge, new bio-diversified and sustainable grain production systems can be designed.

Table des matières

CONTEXTE	7
1. Evolution biogéochimique des surfaces terrestres et climat : cycles et ruptures	7
2. Cycle contemporain du carbone	12
2.1 Avant la révolution industrielle.....	12
2.2 Evolution depuis l'ère industrielle.....	15
3. Interactions écosystèmes terrestres-climat : risque et opportunité	17
3.1 Risque d'un emballement du réchauffement climatique.....	17
3.2 Opportunité : atténuer le réchauffement climatique	19
4. Couplage des cycles du carbone, de l'azote et du phosphore dans les écosystèmes terrestres.	21
4.1 Origine du couplage des cycles biogéochimiques.....	21
4.2 Couplage des cycles de l'azote et du phosphore dans les écosystèmes sans perturbations anthropiques.....	21
4.3 Perturbations anthropiques du cycle de l'azote	24
OBJECTIFS ET APPROCHES.....	28
SYNTHESE DES RESULTATS.....	31
1. Identification des processus de transformation des matières organiques du sol	31
1.1 Processus cellulaire : le priming effect	31
1.2 Processus non cellulaire	46
2. Modélisation : connexion de l'écologie microbienne aux flux de matière dans les écosystèmes	53
2.1 Introduction aux modèles actuels.....	53
2.2 Intégration de la biomasse et la diversité microbienne dans des modèles de flux de matière ...	55
2.3 Intégration du pool d'enzymes dans les modèles de réponse à la température de processus biocatalytiques.....	59
3. Nouvelles prédictions des modèles et tests expérimentaux.....	62
3.1 L'origine de la stabilité du carbone organique dans les horizons profonds	62
3.2 Accumulation continue des MOS dans les écosystèmes.....	63
3.3 Le mécanisme de banque	65
3.4 Réponse des cycles biogéochimiques à l'augmentation du CO ₂ atmosphérique et aux retombées d'azote atmosphérique	74

3.5 Rôle des enzymes et de leurs propriétés thermodynamiques dans la réponse des processus biogéochimiques à la température.....	77
4. Applications biotechnologiques de l'EXOMET : présentation du brevet.	81
PROJET DE RECHERCHE.....	87
1. Inflexion et vision globale du projet.....	87
2. Détails des actions de recherche envisagées	90
2.1 Mécanismes multiples de la synchronisation des échanges de matière microbes-plantes.....	90
2.2 Conception de nouveaux systèmes de culture (NSC).....	95
2.3 Progresser sur la compréhension de l'EXOMET et ses applications biotechnologiques.....	99
2.4 Développer une nouvelle vision de l'effet du réchauffement sur les processus biocatalysés et les organismes.....	101
Bibliographie	106

CONTEXTE

1. Evolution biogéochimique des surfaces terrestres et climat : cycles et ruptures

Sur terre, ce qui est remarquable et un peu énigmatique, c'est que notre planète ait pu traverser plus de 4 milliards d'années en gardant à sa surface des températures compatibles avec la vie la plupart du temps. Pour les scientifiques des sciences de la Terre et de l'atmosphère, il fallait trouver des mécanismes qui permettent à notre planète de réguler sa température. Un des premiers « thermostats » découvert est celui reliant la température à la surface du globe au cycle de l'eau et l'intensité d'un puits de CO₂ atmosphérique, principal gaz à effet de serre, au fond des océans (Figure 1)(Berner, 2012; Walker, 1981). A l'origine de ce puits de CO₂ atmosphérique il y a l'érosion des roches silicatées par les précipitations. Cette érosion conduit à la libération de cations Ca²⁺ ou Mg²⁺ favorisant la dissolution du CO₂ atmosphérique sous forme de carbonates (principalement HCO₃⁻) dans l'eau de ruissellement. Transportés par les rivières ces éléments s'accumulent dans les océans où ils précipitent sous forme de carbonates de calcium ou de magnésium (Ca- ou MgCO₃). Lorsque la température du globe augmente suite à une éruption volcanique libérant massivement du CO₂, l'évaporation de l'eau et les précipitations s'intensifient. Ces précipitations accélèrent l'érosion des roches, la formation de précipités de carbonates et donc le stockage du CO₂ atmosphérique induisant au final une réaction négative sur la température globale (régulation thermique).

Les organismes biologiques participent à cette régulation globale du climat en amplifiant la fixation du CO₂ atmosphérique (Falkowski and Godfrey, 2008; Retallack, 1997). Les cyanobactéries, dont le développement dépend de nutriments libérés par l'érosion des roches (e.g. Fe, P), fixent le CO₂ atmosphérique pour former du carbone organique. Une fraction de ce carbone organique n'est pas recyclée et s'accumule au fond des océans créant un puits de carbone. Le dépôt de calcaire au fond des océans est accéléré par les organismes formant des squelettes carbonés (Diatomées, coraux...). Enfin, les végétaux amplifient le processus d'érosion des roches silicatées et sa réponse aux précipitations. En effet, les racines fragmentent les roches et secrètent des acides organiques favorisant leur dissolution.

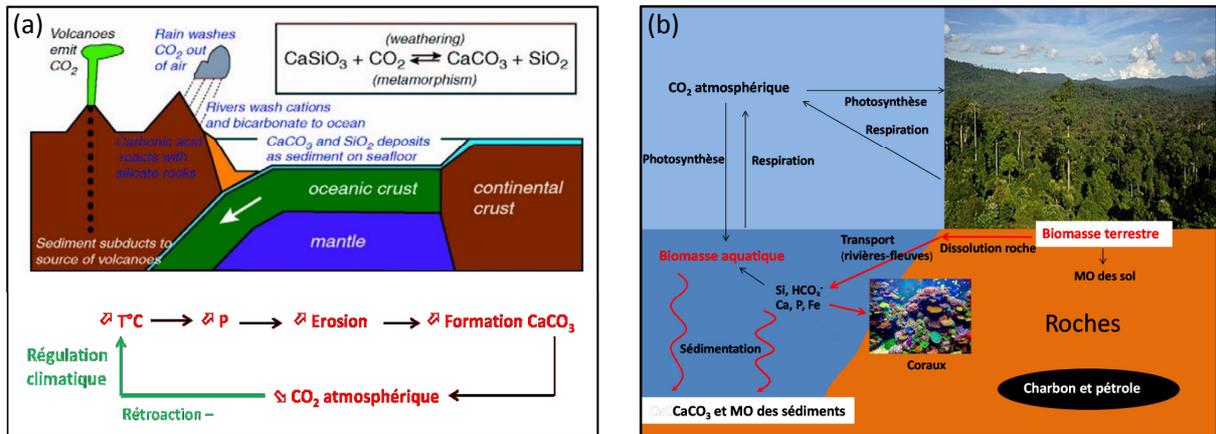


Figure 1 (a) Régulation de la température globale au travers du cycle des silicates, de l'eau et du carbone à l'échelle des millions d'années. L'érosion des roches libèrent des cations (e.g. Ca) provoquant la fixation du CO₂ atmosphérique et le stockage du carbone sous forme de carbonates de calcium au fond des océans. L'augmentation de la température (T°C) et des précipitations (P) intensifie ce puits de carbone créant une rétraction négative sur la température ; (b) Contribution des organismes vivants au cycle du carbone et à la régulation climatique globale. Les végétaux fixent le CO₂ atmosphérique par photosynthèse et incorporent du carbone organique dans les sols créant un puits de carbone. Ils accélèrent aussi la dégradation des roches silicatées via les activités racinaires libérant des minéraux (e.g. Fe, Ca, P). Les minéraux s'accumulent dans les océans stimulent la fixation du CO₂ atmosphérique par la biomasse aquatique (photosynthèse, biominéralisation). Le carbone organique et le CaCO₃ des squelettes carbonés sédimentent au fond des océans créent un puits de carbone.

L'existence de ces mécanismes de régulation thermique ne doit pas faire oublier que le climat de la terre a subi d'importants changements climatiques (±15°C de variation de la température globale) entraînant des modifications drastiques des surfaces terrestres (Glaciation totale « boule de neige », variation de 150 m de la hauteur des océans) et de la vie (Extinction ou explosion des espèces) (Figure 2 & Figure 3). Ces évolutions climatiques sont le résultat de processus physiques et écologiques dominants à différentes échelles de temps, mais toujours imbriqués.

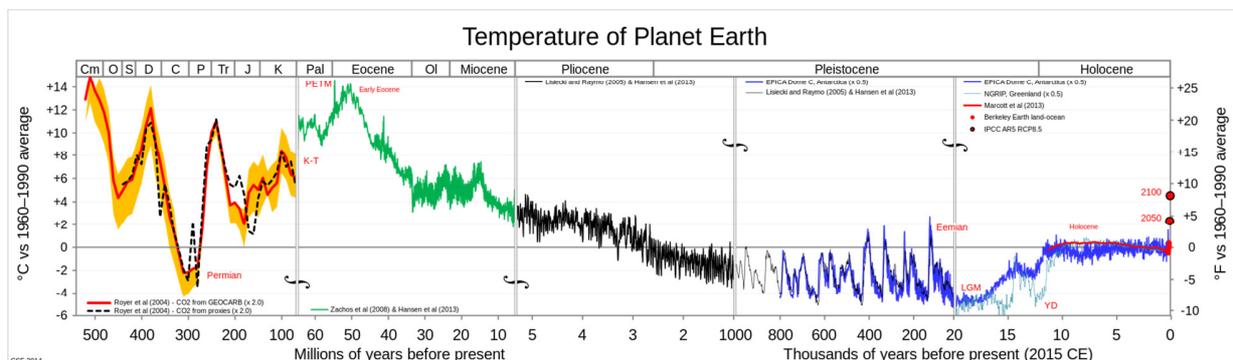


Figure 2 Température globale moyenne au cours des 540 millions d'années. Reconstitution réalisée par Fergus G. pour Wikipédia (accès 20.01.2019)

Les processus contrôlant le climat de la terre peuvent être classés en trois catégories :

Les forçages astronomiques. C'est doute les plus connus et les mieux prédits des forçages du climat. A l'échelle des milliards d'année, le climat de la terre est déterminé l'évolution de l'intensité lumineuse du soleil. Celle-ci augmente de 7% par milliard d'années signifiant que la terre à l'heure actuelle est exposée à environ 40% d'intensité lumineuse en plus que la terre jeune. Cette augmentation de l'intensité lumineuse a été compensée par une diminution globale des gaz à effet de serre expliquant un climat actuel plus froid qu'au début. En outre, le climat est influencé par la position de la terre par rapport au soleil définit par les paramètres orbitaux de la terre (excentricité, obliquité, précession). Actuellement, un fort ensoleillement de l'hémisphère Nord s'accompagne d'un réchauffement global du fait d'un albédo plus faible (plus de surface émergée par rapport à l'hémisphère sud). Ainsi la variation des paramètres orbitaux expliquent la succession de périodes glaciaires et interglaciaires, avec une fréquence de la dizaine et la centaine de milliers d'années, observable depuis le quaternaire (cycles de Milankovitch).

Le forçage tectonique. La tectonique des plaques joue un rôle direct sur le climat en modifiant les bassins océaniques et donc la circulation des masses d'eau, et les reliefs (montagnes) et donc la circulation atmosphérique et la distribution des précipitations. Elle joue également un rôle indirect via le cycle des silicates et des carbonates (Figure 1). Par exemple, l'éclatement du supercontinent Rodinia dans la zone intertropicale il y a 750 millions d'années accélère l'érosion des roches silicatées et la séquestration du CO₂ atmosphérique aboutissant à une glaciation planétaire (boule de neige)(Donnadieu et al., 2004)(Figure 3). L'émergence de la chaîne himalayenne démarrant il y a 50 millions d'années contribuerait à la diminution continue du CO₂ atmosphérique et de la température globale de l'Eocène au Pléistocène (Figure 2).

Le forçage écologique. La compréhension de l'impact du vivant sur le climat est beaucoup plus récente et donc bien moins connue que pour les autres forçages. Néanmoins il est sans appel que le climat de la terre se retrouvera bouleverser avec l'apparition de la vie il y a environ 4 milliards d'années. Une des particularités de ces organismes biologiques par rapport aux réactions chimiques inorganiques est de pouvoir exploiter les énergies faibles grâce à leurs enzymes. En abaissant l'énergie d'activation des réactions chimiques, les enzymes permettent des transformations de la matière à des températures où elles n'auraient pas lieu ou très lentement. Grâce à cette prouesse thermodynamique, à des innovations évolutives incessantes et à leur capacité à se reproduire, les organismes vivants ont colonisé la très grande majorité des surfaces terrestres et aquatiques. La chimie de l'atmosphère et le climat s'en sont retrouvés entièrement modifiés. Les actions du vivant sur le climat sont extrêmement variées et l'objectif de cette introduction n'est pas d'en dresser la liste exhaustive mais plutôt d'en faire ressortir les traits saillants. En particulier, il est important de prendre conscience que les organismes vivants agissent sur le climat via des processus continus et révolutionnaires. Les processus continus correspondent aux activités de ces organismes et à leurs effets sur la concentration en gaz à effet de serre et le cycle de l'eau : fixation photosynthétique du CO₂, respiration du carbone organique, transpiration de l'eau, dissolution rhizosphériques des roches (Figure 1). Globalement, les activités biologiques ont contribué à un refroidissement global de la terre (Figure 2) en favorisant la séquestration de carbone sous forme de carbonates dans les océans et de matières organiques dans les sols et les

sédiments. Les processus révolutionnaires sont liés à l'évolution des organismes. L'évolution désigne la transformation des espèces vivantes qui se manifeste par des changements de leurs caractères génétiques, morphologiques et fonctionnels au cours des générations. Ces innovations techniques ont été plusieurs fois à l'origine de soubresauts biogéochimiques et climatiques.

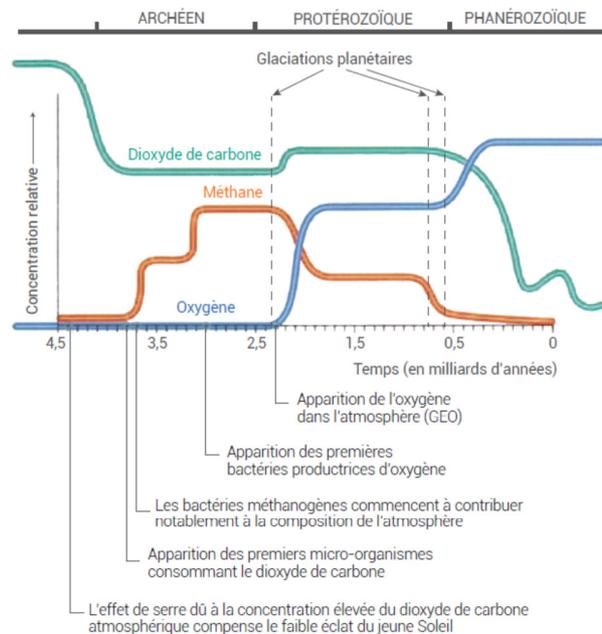


Figure 3 Variation de la concentration relative de l'atmosphère terrestre en oxygène, méthane et dioxyde de carbone, de la naissance de la terre à l'époque présente. Extrait de Ramstein (2017)

L'apparition des premiers organismes chimio-autotrophes (tirant leur énergie de l'oxydation de molécules minérales) diminue la concentration atmosphérique en CO₂ mais augmente celle du méthane, un gaz avec un pouvoir à effet de serre 25 fois plus puissant (Figure 3). Il s'ensuit un réchauffement climatique très important avec des températures supérieures 10 à 15 degrés à celles actuelles alors que l'intensité lumineuse du soleil était bien inférieure. Puis l'apparition des premières bactéries photosynthétiques productrices d'oxygène il y a trois milliards d'années provoque le grand événement d'oxydation et la première glaciation planétaire. En effet, l'accumulation d'O₂ dans l'atmosphère va conduire à une baisse concomitante du méthane et de l'effet de serre du fait d'une oxydation du méthane en CO₂ et d'une inhibition des organismes méthanogènes. La colonisation des surfaces terrestres par les plantes vasculaires il y a environ 450 millions d'années est permise par une innovation technique : la synthèse de tissus lignifiés assurant le port érigé des végétaux. Ces nouvelles molécules organiques étant pas ou peu dégradables par les microorganismes de l'époque s'accumulent dans les sols créant un gigantesque puits de carbone : le charbon. Naturellement la concentration en CO₂ atmosphérique diminue durant le carbonifère conduisant à une glaciation de la planète qui ne sera que partielle du fait de paramètres orbitaux spécifiques (Feulner, 2017). La fin du carbonifère et le réchauffement qui s'ensuit est corrélée à l'apparition de microorganismes capables de sécréter des enzymes dégradant la lignine (peroxydase)(Floudas et al., 2012).

Homo Sapiens est le dernier produit de l'évolution qui est en passe de transformer le cycle du carbone et le climat. Deux innovations techniques majeures vont contribuer au développement de l'Homme, à sa domination sur toutes les autres espèces et à sa colonisation de la plupart des surfaces terrestres: l'agriculture et la combustion d'énergie fossile. Ces deux techniques apportent une grande quantité d'énergie pour ses besoins physiologiques et ses activités (chauffer, transporter...). Le souci est que ces deux techniques conduisent à la libération de grandes quantités de gaz à effet de serre (CO_2 , CH_4 , N_2O) se traduisant sans surprise à une augmentation globale des températures (Figure 4).

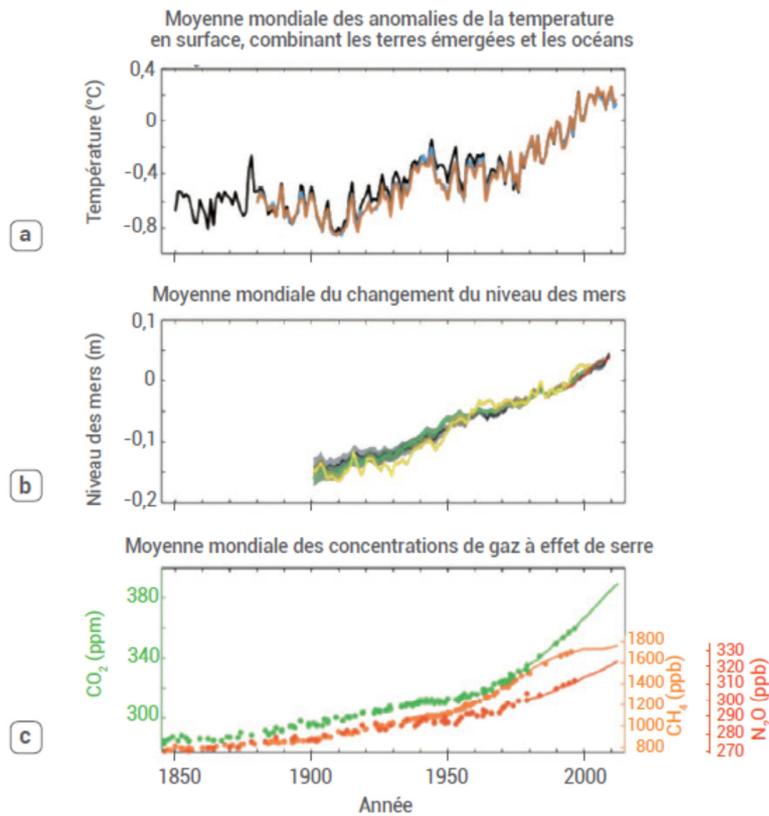


Figure 4 Changements climatiques observés depuis l'année 1850. (a) Moyenne annuelle et mondiale des anomalies de la température de surface combinant les terres émergées et les océans par rapport à la moyenne établie pour la période 1986-2005 ; (b) Moyenne annuelle et mondiale de l'évolution du niveau des mers par rapport à la moyenne établie pour la période 1986-2005 ; (c) Concentrations atmosphériques des gaz à effet de serre que le dioxyde de carbone (CO_2 , vert), le méthane (CH_4 , orange) et l'oxyde nitreux (N_2O , rouge). Source GIEC, changements climatiques 2014, Rapport de synthèse.

En soi l'action de l'Homme sur le climat au travers d'une modification des gaz à effet de serre n'est pas très différente des autres espèces par le passé, exception faite peut être de la rapidité avec lequel s'opère le changement. En deux siècles l'Homme a fait passer la concentration en CO_2 atmosphérique de 280 à 400 ppm. Il faut revenir 3 millions d'années en arrière pour retrouver une concentration équivalente. Quel était alors le climat ? Il était plus chaud d'environ 2°C que l'actuel et le niveau marin était de 10 m plus élevé ; en effet, la calotte du Groenland était très réduite. Et l'augmentation de la

concentration en gaz à effet de serre augmente exponentiellement: entre 1989 et 2019 la concentration en CO₂ atmosphérique a augmenté autant que pendant les 150 ans précédent 1989.

Contrairement aux autres espèces par le passé, l'Homme a également la capacité, au moins en partie, de prendre conscience de son impact sur le climat et des conséquences dramatiques pour sa survie et celles des autres espèces. En 1988, l'ONU crée le Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (GIEC ou IPCC pour la version anglaise) pour synthétiser les études scientifiques sur le climat. Dans son cinquième rapport, le GIEC informe que l'influence de l'homme sur le système climatique est clairement établie et, aujourd'hui, les émissions anthropiques de gaz à effet de serre sont les plus élevées jamais observées. Le réchauffement du système climatique est sans équivoque et, depuis les années 1950, beaucoup de changements observés sont sans précédent depuis des décennies voire des millénaires. L'atmosphère et l'océan se sont réchauffés, la couverture de neige et de glace a diminué, et le niveau des mers s'est élevé. Des changements ont été constatés depuis 1950 environ en ce qui concerne bon nombre de phénomènes météorologiques et climatiques extrêmes. Certains de ces changements ont été attribués aux activités humaines, notamment la diminution des extrêmes de froid, l'augmentation des extrêmes de chaleur, la hausse des niveaux extrêmes de pleine mer et la multiplication des épisodes de fortes précipitations dans diverses régions. Les projections réalisées sur la base de tous les scénarios d'émissions considérés indiquent une augmentation de la température de surface au cours du XXI^e siècle (entre +2 et +4°C selon les scénarios considérés). Il est très probable que la fréquence et la durée des vagues de chaleur augmenteront et que les précipitations extrêmes vont devenir plus intenses et plus fréquentes dans de nombreuses régions. Les océans vont continuer de se réchauffer et de s'acidifier et le niveau moyen de la mer de s'élever. De nombreux aspects des changements climatiques et de leurs répercussions continueront de se manifester pendant des siècles, même si les émissions anthropiques de gaz à effet de serre sont stoppées. Les risques de changements abrupts ou irréversibles augmentent à mesure que le réchauffement s'amplifie. Si l'Homme prend la mesure de l'urgence et décide d'agir pour le climat, il n'a d'autres choix que de réduire ses émissions de gaz à effet de serre au plus vite et de créer des puits de carbone.

2. Cycle contemporain du carbone

Le carbone subit des transformations cycliques et circule entre les grands réservoirs que sont l'atmosphère, les océans, les écosystèmes terrestres, les sédiments et les roches. Les roches, les couches intermédiaires et profondes des océans et les sédiments renferment les plus grandes quantités de carbone (Figure 5). Cependant, les temps de renouvellement du carbone au sein de ces compartiments atteignent plusieurs milliers à millions d'années. Ces compartiments sont donc peu dynamiques et contribuent peu au cycle contemporain du carbone. A l'inverse le carbone circule beaucoup plus rapidement à travers l'atmosphère, les écosystèmes terrestres et les océans de surface pour lesquels les temps de renouvellement du carbone varient de quelques années à milliers d'années. Le faible temps de résidence de ces compartiments rendent ces compartiments très réactifs aux évolutions des facteurs abiotiques et biotiques, et en particulier celles provoquées par les activités anthropiques.

2.1 Avant la révolution industrielle

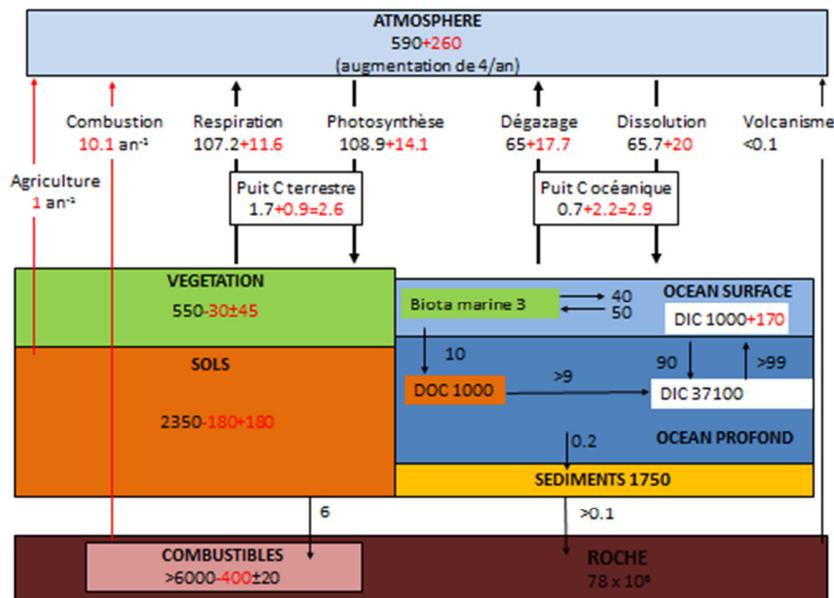
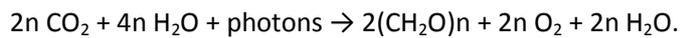


Figure 5 Schéma simplifié du cycle contemporain du carbone. La taille des compartiments et flux de carbone est donnée pour la période avant l'ère industrielle (début en 1750 ; chiffres en noir) et pour 2011 (chiffres en rouge indiquant la variation induite par les activités anthropiques). DIC, carbone inorganique dissous ; DOC, carbone organique dissous. Source des données (Ciais et al., 1997; Houghton et al., 2012; Quéré et al., 2015, 2016)

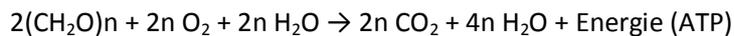
L'atmosphère. Le compartiment de carbone atmosphérique est essentiellement constitué de CO₂ et d'un peu de méthane (~ 2 ppm). La très faible concentration en méthane est expliquée par l'instabilité du méthane qui s'oxyde rapidement en CO₂ en présence d'oxygène (temps de vie du méthane dans l'atmosphère <10 ans). Au contraire, le CO₂ est une molécule stable dont la concentration est maintenue entre 180 ppm and 290 ppm depuis au moins 2.5 millions d'années. Le temps de résidence du CO₂ dans l'atmosphère n'excède pas 5 ans du fait d'importants échanges avec les autres compartiments.

Les océans. Le CO₂ atmosphérique se dissout dans la couche superficielle des océans constituant un réservoir de carbone de 1000 Pg de carbone sous forme de carbonates, principalement du HCO₃⁻ (Figure 5). La quantité de carbonates dans cette couche océanique dépend de la pression partielle de CO₂ atmosphérique, de la concentration en sels et de la température océanique laquelle varie selon la latitude. Sur le tapis roulant des océans, il existe des zones froides où le CO₂ atmosphérique se dissout dans les océans, et des zones chaudes de dégazage. Le mélange des couches de surface avec les couches intermédiaires et profondes prend en moyenne 1000 ans ce qui explique que ces dernières influencent pas ou peu le cycle contemporain du carbone. La biomasse vivante des océans, dominée par des cyanobactéries à turnover rapide comparé aux plantes vasculaires terrestres, renferme peu de carbone. Cependant, elles génèrent néanmoins des flux de carbone important (40-50 PgC an⁻¹) au travers de la photosynthèse et la respiration. Elles contribuent également à la formation de carbone organique dissous et particulaire dont une grande fraction s'accumule dans les couches profondes océans et les sédiments. Dans cette accumulation de matières organiques qui constituent un puits de carbone pour l'atmosphère, il existe une similitude entre les océans et les écosystèmes terrestres.

La biosphère terrestre et les sols. Ce compartiment est constitué pour un cinquième de la biomasse des végétaux pour quatre cinquième des matières organiques des sols (Figure 5). Avec ces 2900 Pg de carbone il constitue un réservoir de carbone cinq fois supérieurs au compartiment de carbone atmosphérique. Les échanges de CO₂ entre l'atmosphère et les écosystèmes sont rapides et intenses. Le CO₂ atmosphérique est fixé par les végétaux et transformé en biomasse végétale en utilisant l'énergie solaire au travers du processus de photosynthèse. La photosynthèse est donc le processus biogéochimique par lequel le carbone passe de sa forme oxydée présente dans l'atmosphère à une forme réduite (organique C) selon la réaction



Cette réaction de polymérisation converti l'énergie solaire en énergie de liaisons chimiques. Par conséquent, les molécules organiques produits par les végétaux et transformés par les végétaux stockent une partie de l'énergie solaire. C'est cette énergie qui va alimenter la plupart des organismes vivants au travers des chaînes alimentaires. La quantité de carbone qui est fixée de l'atmosphère et convertie en carbone organique est appelés production primaire produite (GPP)(Figure 6). A l'échelle globale la GPP représente 108.9 Pg an⁻¹. La quasi-totalité du carbone organique produit par la photosynthèse est respiré par les végétaux, les microorganismes et les végétaux. La respiration est la réaction inverse de la photosynthèse dans le sens où elle transforme le C organique en CO₂ libérant de l'énergie:



L'énergie libérée et utilisable par les organismes vivants est l'adénosine triphosphate (ATP). Environ la moitié de la GPP est respirée par les végétaux (autotrophic respiration AR) tandis que l'autre moitié est synthétisée en racines, feuilles, rhizodepositions... Cette nouvelle production de matière est appelée production primaire net (NPP)(Figure 6).

$$\text{NPP} = \text{GPP} - \text{AR}$$

C'est cette matière qui va être pris en charge par les organismes hétérotrophes qui tirent leur énergie de l'oxydation de carbone organique (heterotrophic respiration HR). Une fraction de la NPP peut être utilisée par les herbivores mais l'essentiel est respiré par les microorganismes décomposeurs du sol. Ces décomposeurs prennent en charge les organes morts des végétaux et animaux ainsi que les composés organiques libérés par les racines des végétaux. La somme AR+HR constitue ce qu'on appelle la respiration des écosystèmes (ER). A l'échelle globale, ER génère un flux de CO₂ très important (107.2 PgC an⁻¹) de l'ordre de grandeur de la GPP. La différence entre la photosynthèse et la respiration des écosystèmes détermine l'échange net des écosystèmes (NEE)(Figure 6)

$$\text{NEE} = \text{GPP} - \underbrace{\text{AR} - \text{HR}}_{\text{ER}}$$

Un petit décalage existe entre la GPP et ER car les écosystèmes jouent un rôle de puits de carbone. A l'échelle globale ce puits de carbone représente 1.7 PgC an⁻¹, correspondant environ à 1.6% de la GPP. Bien que les processus à l'origine de ce puits de carbone ne soient pas entièrement compris il résulte

essentiellement de l'accumulation dans les sols de matières organiques libérées par les microorganismes des sols. Ce puits peut également provenir de l'accumulation de carbone dans les troncs d'arbres en croissance du fait de jeunes forêts en progression ou d'anciennes forêts ayant subi un événement catastrophique (e.g. climatique) provoquant une forte mortalité puis une régénération du peuplement. Le stockage ou le déstockage de carbone des écosystèmes est déterminé par le calcul du bilan de carbone organique de l'écosystème

$$\Delta\text{OrgEco} = \text{GPP} - \text{ER} + \text{I} - \text{O} - \text{OX}_{\text{nc}}$$

où I et O représentent respectivement les entrées et les sorties de carbone organique de l'écosystème et OX_{nc} correspond à l'oxydation du carbone organique en CO_2 par des voies non cellulaires (e.g. oxydation extracellulaire du carbone par les catalyseurs libres du sol).

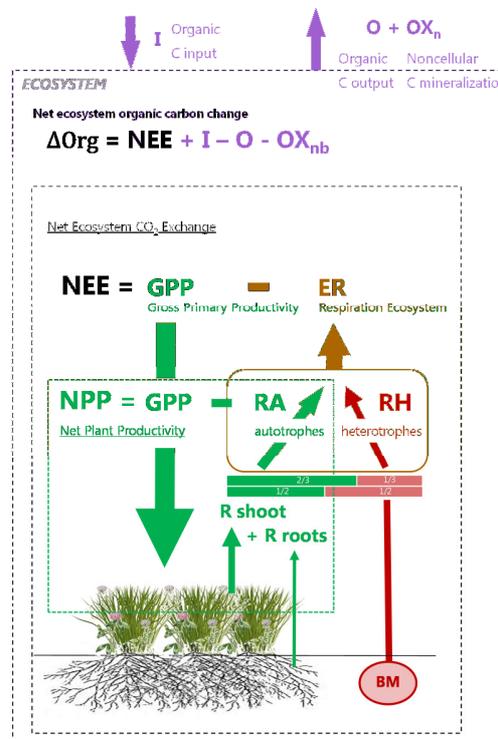


Figure 6 Flux de dioxyde de carbone et de carbone organique constituant le bilan de carbone des écosystèmes.

2.2 Evolution depuis l'ère industrielle

2.2.1 Emissions anthropiques de CO₂

Ces trois derniers siècles, l'Homme a fortement perturbé le cycle du carbone en injectant dans l'atmosphère de grandes quantités de CO₂ (Figure 7). Ces émissions ont démarré des milliers d'années plus tôt avec l'agriculture et donc la conversion de forêts et de prairies en sols cultivés. Cependant, ces émissions se sont intensifiées avec la révolution industrielle et la croissance de la population humaine. Entre 1750 et 2011, l'agriculture a émis 210 PgC sous forme de CO₂ et CH₄ dans l'atmosphère (Ussiri and

Lal, 2017). Ces gaz à effet de serre viennent la combustion et la dégradation microbienne des arbres suite à la déforestation, et de la minéralisation microbienne des matières organiques du sol. Sur la même période, la combustion de combustibles fossiles (charbon, gaz, pétrole) a ajouté 375 PgC dans l'atmosphère. D'abord dominée par l'agriculture les émissions anthropiques de CO₂ ont pour principale source la combustion des énergies fossile devient la principale source à partir des années 1920. Aujourd'hui les émissions de CO₂ par l'agriculture ne représentent plus que 10% des émissions totales. Cette diminution de la part de l'agriculture a pour origine une augmentation exponentielle de l'utilisation des combustibles fossiles et une diminution de la conversion d'écosystèmes naturels en sols cultivés pour diverses raisons (épuisement des surfaces disponibles, sensibilisation des citoyens à la déforestation, politique de préservation des milieux naturels).

2.2.2 Puits de carbone terrestre et océanique

De ces 555 PgC de carbone anthropique émis dans l'atmosphère, moins de la moitié se retrouve dans l'atmosphère (Figure 7). Le reste a été absorbé par les océans et les écosystèmes terrestres signifiant que ces compartiments agissent actuellement comme des puits de carbone.

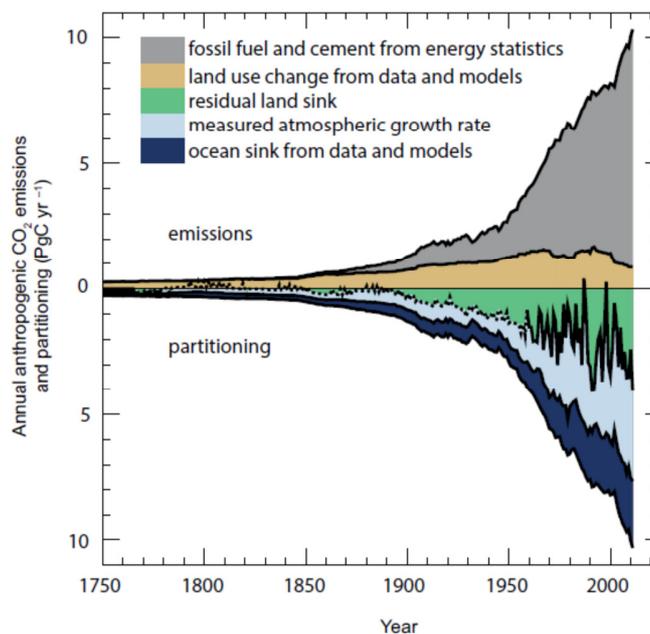


Figure 7 Emissions annuelles anthropiques de CO₂ et sa distribution dans les grands réservoirs de la planète. Les écosystèmes terrestres et les océans agissent comme des puits de carbone freinant l'augmentation du CO₂ atmosphérique et le réchauffement climatique qui en découle. Tiré de (Ciais et al., 2014)

Le puits de carbone des océans et des écosystèmes terrestres représentent respectivement 2.9 et 2.6 GtC an⁻¹ soit 26 et 24% des émissions anthropiques de CO₂. Le puits de carbone océanique est expliqué par une accumulation de CO₂ et de carbonates dans les océans résultant d'un changement de la différence de pression partielle du CO₂ (pCO₂) entre l'atmosphère et les eaux de surface des océans (Figure 5 & Figure 7). Si les émissions anthropiques de CO₂ continuent d'augmenter, il est probable que

le puits de carbone océanique sature dans les années à venir du fait d'une acidification des océans et d'une diminution de la solubilité du CO₂ dans les eaux des océans qui se réchauffent. Sur le très long terme (> siècles), le mélange des eaux de surface avec les eaux profondes permettra aux océans d'absorber 50 à 80% du CO₂ anthropique (Ussiri and Lal, 2017). L'origine du puits de carbone terrestre est plus compliquée à appréhender pour diverses raisons. La distribution du carbone est très hétérogène sur les surfaces terrestres à la fois horizontalement (grande variabilité latitudinale et longitudinale de la biomasse végétale et du carbone du sol) et verticalement (le long du profil de sol). De nombreux écosystèmes différents sont impliqués dans la séquestration de carbone. Cette séquestration du carbone dépend d'un équilibre versatile entre photosynthèse et respiration de l'écosystème sous le contrôle d'un grand nombre de facteurs biotiques (activités et diversité des plantes, microorganismes, enzymes du sol...) et abiotiques (température, humidité de sol...). Cependant, il est clairement établi que ce puits de carbone terrestre est créé par les écosystèmes terrestres non convertis en sols cultivés (forêts, prairies, tourbières). La fixation de carbone par ces écosystèmes (GPP) aurait été stimulée par une fertilisation globale carbonée (augmentation du CO₂ atmosphérique) et azotée (augmentation des retombées d'azote atmosphérique) (Ciais et al., 2014). Les satellites ont également observé un verdissement des surfaces terrestres au niveau des hautes latitudes conduisant à une augmentation de la GPP globale de 12% (Ciais et al., 2014). Ce verdissement serait le fruit du réchauffement global améliorant les conditions de développement des plantes dans les régions les plus froides. Les plus grandes incertitudes subsistent sur la capacité des écosystèmes terrestres à maintenir ou non leur puits de carbone dans les prochaines années. De nombreuses expérimentations manipulant la concentration en CO₂ suggèrent que les écosystèmes ne maintiennent pas leur puits de carbone sur le long terme (Groenigen et al., 2014a). Au bout de quelques années la GPP des plantes semblent limitées par d'autres facteurs et la respiration des sols augmentent compensant les incorporations de carbone dans les sols. Le maintien du puits de carbone terrestre dépend également des évolutions climatiques et de leur impact mal compris sur l'équilibre photosynthèse-respiration (GPP/ER) des écosystèmes terrestres. Le processus le moins bien compris reste la respiration des sols et sa réponse à la température.

3. Interactions écosystèmes terrestres-climat : risque et opportunité

3.1 Risque d'un emballement du réchauffement climatique

Les écosystèmes terrestres renferment un stock de carbone plus de trois fois supérieur à celui de l'atmosphère (Figure 5) signifiant qu'une petite variation du stock de carbone terrestre induira des changements majeurs de la concentration en CO₂ atmosphérique et du climat qui en dépend. Et ces changements peuvent s'opérer très rapidement (quelques années à dizaines d'années) puisque les échanges de CO₂ entre l'atmosphère et les écosystèmes sont quantitativement importants par rapport au stock (la respiration des écosystèmes génère un flux de C annuel correspondant à 15% du réservoir atmosphérique, Figure 5). Les évolutions climatiques de ces dernières années ont plutôt été favorables à une séquestration de carbone par les écosystèmes (fort ratio GPP/ER) comme le montre la mesure des puits de carbone.

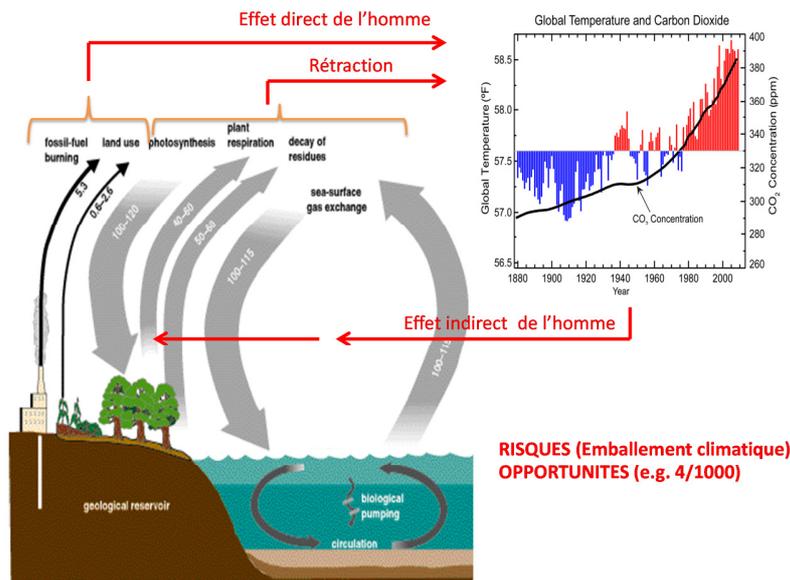


Figure 8 Effet direct et indirect de l'homme sur la concentration en CO₂ atmosphérique et la température globale. Les émissions de C anthropique induisent un réchauffement global pouvant provoquer une libération de carbone des écosystèmes, en particulier des sols, lesquelles rétroagissent positivement sur l'augmentation de la température (emballage climatique). La séquestration de carbone dans les écosystèmes est un moyen d'atténuer le réchauffement climatique.

Cependant, les expérimentations manipulant certains paramètres du climat comme la température et la sécheresse suggèrent que les écosystèmes pourraient basculer d'une fonction de puits à une fonction de source dans les dizaines d'années à venir. Les activités microbiennes et la température étant corrélées positivement sur le court terme, l'augmentation de la température pourrait accélérer la minéralisation microbienne du carbone du sol libérant de grandes quantités de CO₂ et de CH₄ (Figure 8)(Davidson and Janssens, 2006; Knorr et al., 2005). Cependant, d'autres expérimentations conduites à plus long terme suggèrent un phénomène d'acclimatation de la minéralisation microbienne à la température (Bradford et al., 2019; Christian P. Giardina and Ryan, 2000; C. P. Giardina and Ryan, 2000; Luo et al., 2001). Le dégel progressif des permafrosts va exposer de grandes quantités de matières organiques accumulées depuis des dizaines milliers d'années à l'oxydation microbienne libérant de grandes quantités de CO₂ (Keuper et al., 2017). Ce dégel peut également libérer de grandes quantités méthane via une déstabilisation des hydrates de méthane. La fréquence des sécheresses estivales et des événements climatiques extrêmes comme les tempêtes et les vagues de chaleur augmentent avec le réchauffement climatique. Ces facteurs climatiques ont des effets négatifs bien plus marqués sur les végétaux et leur activité photosynthétique que sur les microorganismes et leur activité de minéralisation des matières organiques des sols(Ciais et al., 2005). De plus, étant donné que la niche climatique des espèces végétales se déplace vers l'hémisphère nord et en altitude, le maintien de la photosynthèse sous réchauffement climatique dépend de la migration des espèces. Chez certaines espèces végétales, notamment chez les arbres, la vitesse de migration ne sera pas suffisante. Par conséquent, le réchauffement global pourrait à l'avenir déclencher une chute de la photosynthèse, un maintien ou une accélération de la respiration microbienne conduisant à une libération massive de CO₂ dans

l'atmosphère. La rétroaction positive sur le climat des écosystèmes terrestres, en particulier des sols, signifierait une instabilité du système écosystème terrestre-climat exposant la terre à un emballement climatique.

3.2 Opportunité : atténuer le réchauffement climatique

Si les interactions écosystèmes terrestres-climat est parfois vu comme une menace, il constitue également une opportunité pour l'Homme d'atténuer le réchauffement climatique. L'Homme a la main sur les écosystèmes terrestres et sur leur fonctionnement. Il peut choisir les types d'écosystèmes recouvrant les surfaces terrestres et agir dessus au travers de nombreuses techniques : choix des espèces végétales, récolte ou non de la biomasse, irrigation, travail du sol, fertilisation minérale... Historiquement son action sur le stock de carbone des écosystèmes terrestres a été négative du fait de la conversion d'écosystèmes naturels en terre cultivée et de pratiques agricoles maximisant la production de nourriture mais appauvrissant les sols en matières organiques. Une modification des écosystèmes terrestres en vue de réduire le recours aux énergies fossiles et de séquestrer du carbone est possible.

La biomasse végétale (bois, cellulose, huiles, alcool) renferme de l'énergie solaire qui a été transformée en énergie de liaison chimique. La biomasse végétale est un donc combustible utilisable pour de nombreuses applications (chauffage, carburant...). Le CO₂ libéré lors de la combustion de la biomasse a été précédemment fixé par les végétaux si bien que son impact sur la teneur en CO₂ atmosphérique est nul. La biomasse est donc considérée comme une énergie renouvelable qui pourrait être utilisée afin de réduire l'empreinte de l'Homme sur le climat. Cependant, l'utilisation de la biomasse comme source d'énergie pour l'humanité est limitée par des contraintes physiques incontournables. Actuellement 38% de la NPP est déjà récoltée par l'Homme et il est estimé que 53% de la NPP n'est pas récoltable du fait de contraintes d'accès et de fractions de la biomasse non utilisables (e.g. Racines)(Running, 2012). Hors la production de nourriture devrait augmenter de 80% afin de satisfaire la demande de 9.8 milliard d'individus à l'aube de 2050. Il y a donc une compétition de plus en plus forte entre la production de nourriture et de biomasse énergie qui limite de fait la substitution des énergies fossiles par la biomasse. De plus, une part des bioénergies est actuellement obtenue avec des pratiques non durables impliquant l'utilisation de fertilisants minéraux sur des sols cultivés qui perdent du carbone organique et émettent du CO₂.

Une autre manière d'atténuer l'empreinte de l'Homme sur la teneur en CO₂ atmosphérique est la séquestration de carbone dans les océans et les écosystèmes terrestres. La séquestration correspond à absorber une fraction du CO₂ atmosphérique et à transférer ce carbone dans des compartiments où il sera maintenu sur le long terme. Les océans et les écosystèmes séquestrent déjà l'équivalent de la moitié des émissions de C anthropiques. Il suffit pour l'Homme d'augmenter les niveaux de séquestration afin de compenser totalement les émissions anthropiques. Et le potentiel de séquestration est gigantesque : une petite modification (5%) des échanges de CO₂ entre les océans et les écosystèmes terrestres avec l'atmosphère peut annuler les émissions de C anthropiques. Le puits de carbone créé par la dissolution du CO₂ dans les océans est difficilement amplifiable puisqu'il dépend des grands courants marins mélangeant les eaux de surface et profondes. Au contraire, le puits de carbone terrestre est manipulable par l'Homme puisqu'il dépend des types d'écosystèmes terrestres maintenus, implantés et

gérés. Le puits de carbone terrestre actuel est essentiellement constitué par les écosystèmes naturels ou perturbés tels que les forêts, les tourbières, les savanes et les prairies permanentes (Ussiri and Lal, 2017). Agir sur ces écosystèmes afin d'accroître encore leur fixation de carbone ne devrait certainement pas être la priorité. En effet, ces écosystèmes sont déjà extrêmement performants d'un point de vue environnemental (stockage de carbone, rétention des nutriments, stabilité des sols) et soutiennent une grande diversité végétale et animale comparés aux agrosystèmes créés par l'Homme. De plus, ces écosystèmes naturels renferment de nombreuses boucles de rétroaction qui rendent leurs réponses à des modifications de leur milieu difficilement prévisibles. Une opportunité très intéressante d'accroître le puits de carbone terrestre est de restaurer les stocks de carbone organique des sols agricoles (sols cultivés, prairies temporaires et permanentes).

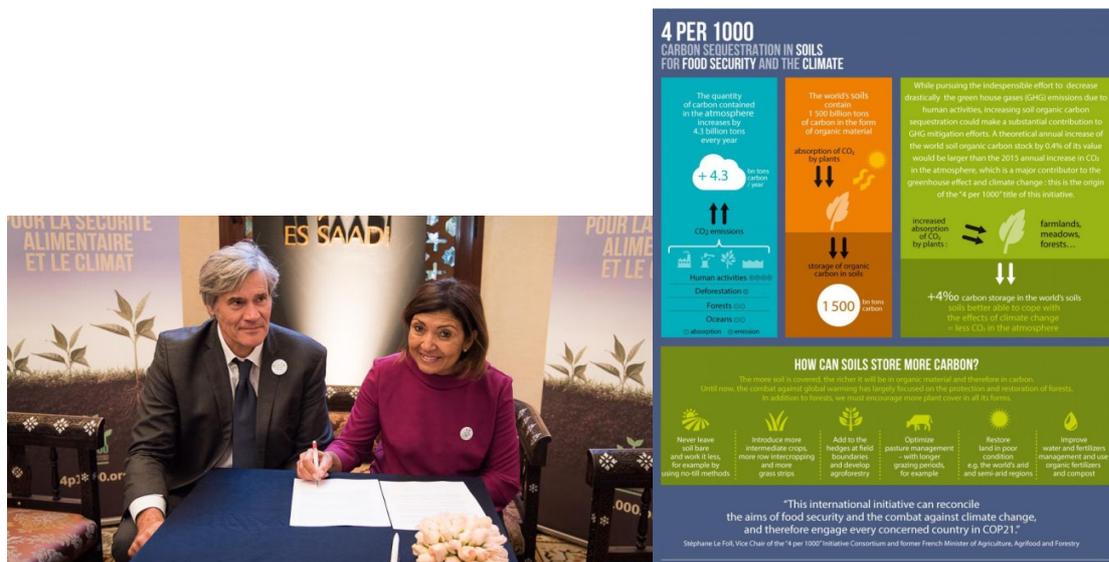


Figure 9 Signature des accords 4/1000 à la COP22 de Marrakech et plaquette présentant le concept des 4/1000.

Ce stockage de carbone dans les sols est l'objet de l'initiative internationale 4/1000 lancée par le France lors de la COP21 organisée à Paris en 2015 et signée à la COP22 de Marrakech (Figure 9). Afin de souligner le potentiel des sols à atténuer le réchauffement climatique, l'initiative souligne qu'une croissance de 4/1000 du taux de carbone dans les 30 premiers centimètres de sol stopperait l'augmentation annuelle de gaz carbonique (CO₂) dans l'atmosphère (4 PgC an⁻¹). Il y a de nombreux co-bénéfices à stocker des matières organiques dans les sols. Les matières organiques du sol réduisent l'érosion des sols, favorisent l'infiltration de l'eau et réduisent le ruissellement provoquant les inondations, augmentent les réserves de nutriments et d'eau et in fine les productions agricoles. La dégradation des sols menace plus de 40% des terres émergées et les dérèglements climatiques accélèrent ce processus. Hors cette dégradation des sols a des effets néfastes sur la sécurité alimentaire et l'agriculture familiale. Par conséquent, augmenter les stocks de matières organiques des sols contribue au triple défi de la sécurité alimentaire, de l'adaptation des systèmes agricoles et forestiers des populations aux dérèglements climatiques et de l'atténuation des émissions d'origine anthropique. De nombreuses solutions existent déjà pour augmenter les stocks de matières organiques des sols :

recyclage des matières organiques, agriculture de conservation, reforestation ou implantation de prairies sur les sols dégradés, aménagement du territoire. Néanmoins les teneurs en matière organique sont maintenues à des niveaux très faibles dans la plupart des sols cultivés du fait de pratiques inadaptées et d'une connaissance insuffisante des processus d'accumulation des matières organiques des sols (INRA Expertise Scientifique Collective, 2002; Martin et al., 2011).

4. Couplage des cycles du carbone, de l'azote et du phosphore dans les écosystèmes terrestres.

4.1 Origine du couplage des cycles biogéochimiques

Les cycles du carbone, de l'azote et du phosphore sont étroitement couplés. L'origine de ce couplage est l'existence de réactions chimiques où interagissent ces éléments (Elser et al., 1996). Ces réactions peuvent se produire de manière spontanée dans l'environnement ou être organisées par les cellules des organismes vivants. Par exemple, les oxydes nitreux (NO_x) participent à la dégradation du CH₄ en CO₂ dans l'atmosphère. De manière très importante, les organismes vivants participent au couplage des cycles biogéochimiques du fait de leurs contraintes stœchiométriques. Ces contraintes sont définies par le fait que les organismes vivants sont composés d'environ 20 éléments dont les ratios sont bien définis et dépendent de l'assemblage des structures fondamentales du vivant (ADN, protéines, lipides)(Figure 10).

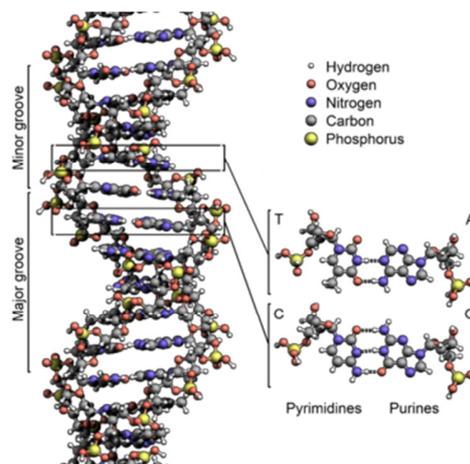
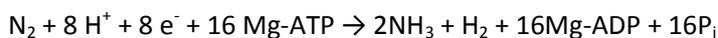


Figure 10 Composition élémentaire de l'acide désoxyribonucléique (ADN).

Par conséquent, la modification de la disponibilité d'un élément (e.g. carbone sous forme de CO₂ pour les végétaux) n'influencera pas seulement la productivité biologique mais aussi la disponibilité et les besoins d'autres éléments pour les organismes (e.g. limitation en phosphore et azoté des végétaux) et, sur le plus long terme, la structure et le fonctionnement des écosystèmes.

4.2 Couplage des cycles de l'azote et du phosphore dans les écosystèmes sans perturbations anthropiques

Bien que la disponibilité de nombreux éléments peut influencer le fonctionnement des écosystèmes, les deux éléments limitants majeurs après le carbone sont l'azote et le phosphore. Les roches ne contenant pas ou très peu d'azote les voies d'entrée d'azote dans les écosystèmes sont majoritairement la fixation symbiotique d'azote atmosphérique (N_2) suivie par les retombées d'azote atmosphérique (Figure 11). Dans le système biologique fixateur de N_2 les conditions optimales de la catalyse biologique correspondent à une pression de 0,2 à 1,0 atmosphère de N_2 et une température de 30–35 °C, alors que les conditions de la catalyse chimique sont très sévères : pression de 250-1000 atmosphère de N_2 et température de 450 °C. Cette prouesse thermodynamique est permise par la nitrogénase des bactéries *Rhizobium* cultivées par les plantes symbiotiques dans leurs nodosités. Cette enzyme catalyse la réaction suivante :



A l'installation d'un écosystème suite à un événement catastrophique (e.g. éruption volcanique), la production des végétaux et les activités microbiennes sont principalement limitées par l'entrée d'azote.

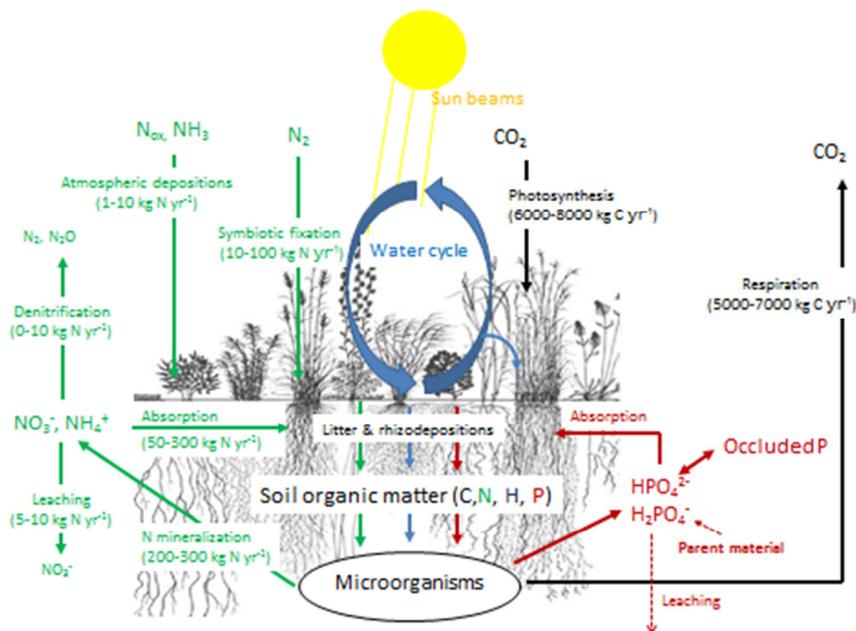


Figure 11 Schéma simplifié des cycles couplés du carbone, de l'azote, du phosphore et de l'eau dans un écosystème terrestre. Les flux de carbone et d'azote exprimés en kg de carbone et d'azote par hectare et par an sont des ordres de grandeurs pour des écosystèmes tempérés et tropicaux non inondés (condition aérobie).

Au fur et à mesure des millénaires, de l'azote s'accumule dans l'écosystème sous forme de matières organiques des sols. Ces matières organiques sont minéralisées par les décomposeurs hétérotrophes du sol, principalement des bactéries et des champignons, libérant de l'azote soluble, essentiellement minéral, disponible pour la nutrition minérale des plantes (Figure 11). Ainsi, au fur et à mesure de l'accumulation d'azote organique la limitation azotée des organismes est levée et de la production

primaire augmente. Le coût énergétique de la fixation symbiotique (8 ATP / NH₃ fixé) rend cette voie d'acquisition d'azote pour la plante moins intéressante que le prélèvement d'azote minérale. Par conséquent, le recyclage de l'azote des matières organiques déposées par les végétaux devient la principale source d'azote pour le couvert végétal (Vitousek et al., 2002). Les pertes d'azote des écosystèmes se produisent au travers du lessivage des nitrates non retenus par les particules du sol du fait de leurs charges négatives, et des émissions de N₂ et N₂O au cours de la nitrification et de la dénitrification. Dans les écosystèmes peu perturbés telles que les prairies permanentes ou les forêts, les pertes d'azote sont largement compensées par les entrées permettant une accumulation de l'azote organique dans le sol au cours du temps.

Le phosphore incorporé dans le vivant vient de la dissolution des roches (apathies) libérant des phosphates :



Ces phosphates peuvent être absorbés par les végétaux ou rapidement s'adsorber sur les particules du sol ou précipiter avec des cations (Ca ou Mn)(Figure 11). Du fait de la forte réactivité des phosphates avec l'environnement physicochimique du sol, la concentration en phosphate dans la solution du sol est typiquement faible. Hors la plante ne peut absorber que les phosphates solubles. Elle a donc développé différentes stratégies (Hinsinger, 2001) afin de solubiliser le P des pools inorganiques et organiques (matières organiques des sols) incluant 1) la sécrétion de ligands désorbant le P des particules du sol et d'acides organiques solubilisant le P des roches et des précipités, 2) la sécrétion de phosphatases libérant le phosphore de la matière organique des sols et 3) l'association symbiotique avec les champignons mycorhiziens. Dans cette symbiose, les racines fournissent l'énergie organique essentielle à ces organismes hétérotrophes tandis que les champignons fournissent du P à la plante en colonisant très grands volumes de sol grâce à leurs hyphes et en sécrétant des phosphatases. Contrairement à l'azote dont la réserve atmosphérique est quasiment infinie pour les organismes vivants, la réserve en P des écosystèmes naturels est limitée par la quantité de P présent dans la couche superficielle des roches. Cette réserve est maximale à l'installation des écosystèmes et décroît avec le temps (Figure 12).

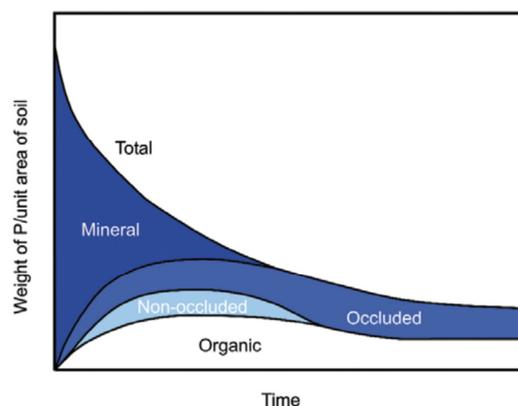


Figure 12 Evolution du phosphore totale et de ses différentes formes au cours du temps. Tiré de (Filippelli, 2008)

En effet, même si le P est mieux retenu par les particules du sol que à l'azote, du P sort continuellement des sols du fait d'un lent mais continu lessivage de P soluble ou particulaire. A moins d'une érosion continue du sol offrant à l'écosystème de la roche fraîche (cas des montagnes), le sol s'appauvrit en P conduisant avec le temps (milliers-millions d'années) à un déclin des principales fonctions des écosystèmes (diminution de la production primaire, ralentissement de la décomposition microbienne...). Les écosystèmes de toutes les zones climatiques sont exposés à ce déclin lié au P mais les zones tropicales sont plus exposées du fait de sol plus ancien et très dégradé par le climat. Avec l'épuisement des réserves de P inorganique au cours de l'évolution des sols, la minéralisation des matières organiques du sol devient une source de P essentielle pour les végétaux.

4.3 Perturbations anthropiques du cycle de l'azote

Jusqu'à l'ère industrielle, la fixation symbiotique a été la principale source primaire d'azote pour les cultures, l'autre voie, reposait sur le recyclage de l'azote grâce à l'association étroite entre cultures et élevages (Galloway et al., 2008; Peyraud et al., 2012). L'élevage a longtemps servi – et sert toujours dans de nombreux pays – à récolter l'azote accumulé dans les prairies permanentes par fixation symbiotique et retombées d'azote atmosphérique afin de le transférer sur les cultures. Ce transfert se faisant au travers du pâturage et la consommation de foin par les animaux lesquelles produisent de l'urine et de fèces qui sont épandus sur les cultures. La mise au point du procédé Haber-Bosh au début du 20^{ème} siècle a permis la synthèse industrielle d'ammoniac à partir de l'azote atmosphérique et de méthane et rendu possible la fertilisation des sols sans association avec l'élevage. La généralisation de l'emploi des fertilisants chimiques à partir des années 1950 explique pour beaucoup la croissance très rapide de la production agricole mondiale. Ainsi d'une situation où l'azote réactif était limitant pour les productions agricoles, nous sommes passés à une situation où l'azote est devenu facilement disponible et bon marché. En parallèle, un processus d'industrialisation de l'agriculture s'est mis en place conduisant à une spécialisation régionale des productions et à une séparation géographique des zones de culture et d'élevage. Cette spécialisation des productions agricoles s'est accompagnée de transport de nutriments sous forme d'engrais, d'aliments pour animaux et de viande sur des distances de plus en plus longues générant des émissions de gaz à effet de serre. D'abord en France avec, par exemple, un transfert de céréales entre le bassin parisien et la Bretagne spécialisée dans l'élevage. Ensuite, ces échanges de matière se sont largement globalisé dans les années 70-80 comme pour le reste de de l'économie (Figure 13)

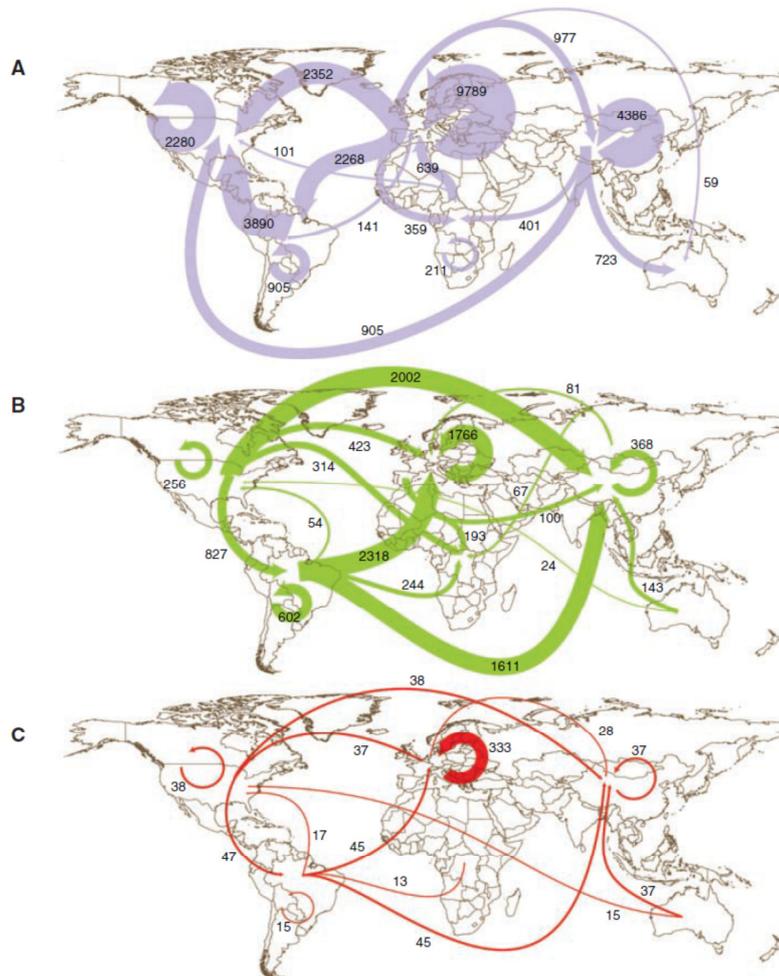


Figure 13 Quantités d'azote échangées en 2014 au travers du marché mondial de fertilisant (A), de grains (B) et de viande (C) exprimées en milliers de tonnes (Galloway et al., 2008).

L'usage excessif de l'azote réactif, joint à une spécialisation des productions agricoles concentrant les nutriments dans certaines régions et des périodes de sols nus, génère des pertes d'azote réactif vers l'environnement sous la forme de nitrate ou d'azote organique dissous vers les aquifères et d'émissions de NH_3 , NO_x , N_2O dans l'atmosphère. Parallèlement à l'utilisation des engrais d'autres processus contribuant au rejet d'azote réactif dans l'environnement vont s'ajouter (Figure 14): (1) culture de légumineuse augmentant la fixation symbiotique et (2) la combustion d'énergie fossile qui convertit l'azote atmosphérique et l'azote contenu dans les combustibles en NO_x émis dans l'atmosphère.

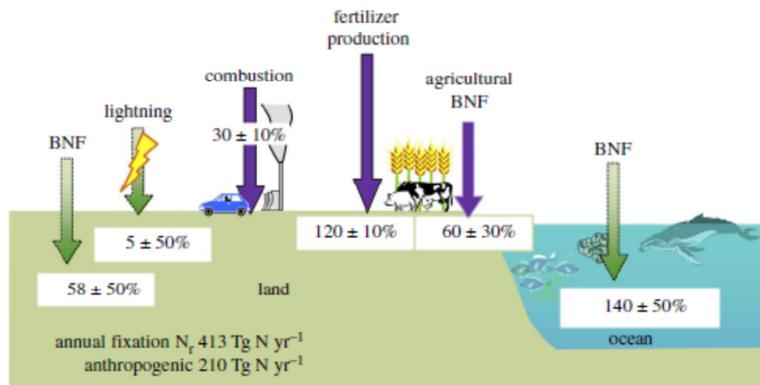


Figure 14 Les principaux flux d'entrée d'azote dans les écosystèmes terrestres et marins à l'échelle globale. Les flèches vertes représentent les flux liés à des processus naturels tandis que les flèches violettes représentent les flux générés par les activités anthropiques. Tiré de (Fowler et al., 2013)

En quelques décennies les activités humaines vont doubler les entrées d'azote réactif dans les écosystèmes terrestres et marins, les faisant passer de 203 à 413 TgN an⁻¹(Fowler et al., 2013). Le transfert séquentiel de l'azote réactif dans les différents compartiments de la planète (biosphère, eau, air, sol) avec ses conséquences sur le climat, la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes est appelé la cascade de l'azote (Galloway et al., 2008)(Figure 15).

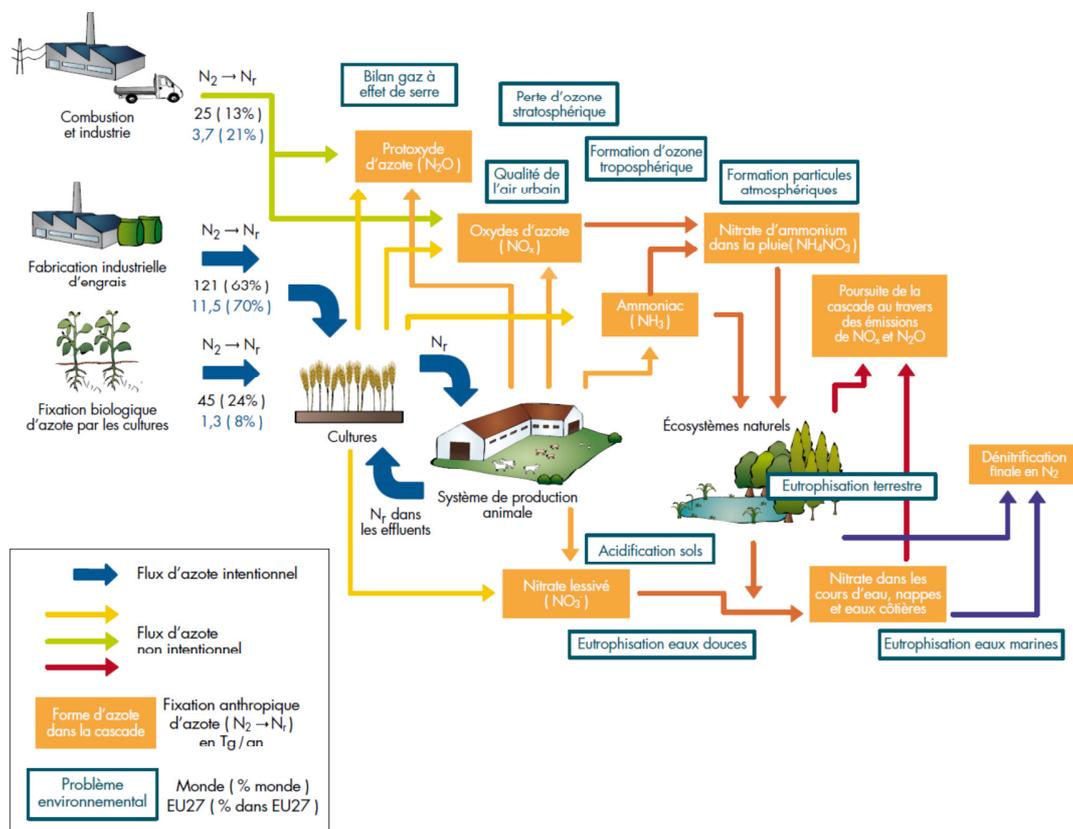


Figure 15 Schéma simplifié de la cascade d'azote mettant en évidence les trois principales voies d'entrée de l'azote réactif, la propagation de l'azote dans les écosystèmes et les impacts environnementaux.

La phase ultime de cette cascade est le retour de l'azote sous sa forme non réactive (N_2) dans l'atmosphère. La proportion d'azote réactif produit par les activités anthropiques (210 TgN an^{-1}) retournant sous la forme non réactive N_2 dans l'atmosphère est comprise entre 30 et 60% suggérant que de l'azote réactif s'accumule dans des puits (Fowler et al., 2013). La distribution de l'azote dans les différents compartiments de la planète reste peu connue. Cependant, une petite quantité de l'azote réactif s'accumule dans l'atmosphère ($3,6 \text{ TgN an}^{-1}$) sous forme de N_2O , un puissant gaz à effet de serre avec un temps de résidence de 100 ans (Ciais et al., 2014; Fowler et al., 2013). Une autre fraction de l'azote réactif s'accumule dans les aquifères et les océans sous forme d'azote minéral ou d'azote organique dissous. La majorité de l'azote réactif s'accumulent dans la biomasse et les matières organiques des sols et des sédiments représentant un puits d'environ 75 TgN an^{-1} bien que de grandes incertitudes subsistent sur ce chiffre ($\pm 25 \text{ TgN an}^{-1}$)(Fowler et al., 2013). Cette accumulation est expliquée par la retombée du NH_3 et les NO_x émis dans l'atmosphère sur les écosystèmes terrestres et les océans stimulant la production primaire des végétaux et du phytoplancton souvent limitée par l'azote disponible. Ces organismes augmentent leur biomasse créant un puits d'azote (surtout pour les arbres) et libèrent des matières organiques fraîches dans le milieu. La majeure partie de ces matières organiques fraîches est recyclée par les microorganismes libérant de l'azote minéral dans le milieu. Cependant, une petite partie est transformée/humifiée par les microorganismes en matières organiques persistantes (temps moyen de résidence pouvant atteindre des centaines-milliers d'années). Ces matières organiques humifiées s'accumulent dans les sols ou les sédiments créant un puits d'azote.

OBJECTIFS ET APPROCHES

L'objectif principal de mes recherches, depuis ma thèse de doctorat soutenue en 2003, est la compréhension des cycles biogéochimiques (C,N,P) des écosystèmes terrestres dans un contexte de changement climatique et du développement d'une agriculture durable. Les écosystèmes étudiés concernent principalement les prairies permanentes mais incluent également des sols cultivés et des forêts afin de comprendre la différence de fonctionnement de ces écosystèmes. La plupart des études ont été effectuées en climat tempéré et plus ponctuellement dans des climats tropicaux humides (Amazonie) et arctiques froids (Cercle polaire-permafrosts).

Mes travaux de recherche s'articulent autour de trois axes de recherche :

- 1) Caractériser et quantifier les processus de transformation de la matière et leurs réponses aux facteurs biotiques (e.g. type de couvert végétal) et abiotiques (e.g. température). Un focus a été réalisé sur les processus de minéralisation et de construction de la minéralisation des matières organiques des sols.
- 2) Identifier les traits et stratégies de vie des organismes vivants (plantes et microorganismes) du sol au regard des cycles biogéochimiques. Quelles sont les transformations de matière opérées ? D'où tirent-ils leur énergie ? Quelles sont leurs principales limitations nutritionnelles?
- 3) Théorie de l'ensemble : analyse systémique des échanges de la matière entre les organismes vivants en intégrant le rôle des interfaces (e.g. rhizosphère), réponse du système aux facteurs de l'environnement (Température, CO₂ atmosphérique, déposition d'azote atmosphérique) et à la gestion (type d'espèces implantées, coupes, fertilisation).

Mes activités de recherche ont donc un caractère interdisciplinaire important participant au renouvellement des connaissances dans les domaines de la biogéochimie, de l'écologie fonctionnelle et des communautés et de l'agronomie. La finalité première de mes recherches est de prévoir l'impact des changements globaux sur les services écosystémiques adossés aux processus biogéochimiques :

nutriments pour la production végétale, stockage de C dans le sol, diminution des gaz à effet de serre, préservation de la qualité des eaux. Les produits de mes recherches se propagent également dans d'autres domaines d'applications tels que la conception de nouveaux écosystèmes à haute performance environnementale produisant du grain (e.g. céréales) et des applications biotechnologiques (Piles respirantes).

Le priming effect : l'amorce de ma carrière scientifique. L'objectif de mon recrutement en 2003 était d'étudier les flux C-N en prairie en tenant compte de la diversité des plantes et des microbes. Ce profil arrivait dans un contexte scientifique favorable aux recherches sur la biodiversité et son rôle fonctionnel dans l'écosystème, notamment vis-à-vis de la production des écosystèmes (p.e. relation diversité végétale/production) et de la respiration du sol (relation diversité microbienne/respiration).

De mon côté, je venais de terminer une thèse sur le priming effect (PE) qui signifie « effet d'amorçage » en anglais. Ce PE correspond à l'accélération de la minéralisation des matières organiques des sols lorsque les microbes du sol sont alimentés par des substrats énergétiques. Bien qu'étudié depuis les années 50 le PE fait l'objet de très peu d'études du fait de contraintes méthodologiques, de doutes sur l'existence même de ce processus et de résultats divergents. Ma thèse va permettre de lever les doutes et démontrer l'existence de ce PE ainsi que proposer une première théorie basée sur l'écologie des microorganismes du sol expliquant les résultats divergents sur le PE. Elle va également révéler les conséquences de ce PE pour la modélisation des flux CN des sols : la minéralisation des MOS est limitée par l'activité et la structure des communautés microbiennes et non par la quantité de MOS. Cela remettait en cause le formalisme des modèles de flux de matière.

Quelles seraient les prédictions des modèles biogéochimiques s'ils intégraient la limitation microbienne dans les processus de flux de matière des sols ? J'ai débuté ma carrière à l'INRA en essayant de répondre à cette question en construisant des modèles où les flux CN des sols étaient connectés à la dynamique et la diversité des microorganismes du sol. La construction de ces modèles a représenté un investissement important car il fallait choisir les équations reliant activités microbiennes et flux de matières, intégrer les contraintes stœchiométriques des microbes, définir les différents groupes microbiens et assimiler de nombreuses méthodes mathématiques. Mais cet investissement en valait la peine car l'analyse de ces modèles accéléra les avancées sur la compréhension du PE et ses conséquences pour le fonctionnement des écosystèmes. Les nouvelles prédictions des modèles seront autant d'hypothèses testées dans des expérimentations pendant la période suivante la publication de la théorie (Fontaine and Barot, 2005) jusqu'à aujourd'hui. La culture mathématique acquise va également me servir tout au long de ma carrière.

Exploration de nouvelles voies de recherche. Début des années 2010 j'ai senti le besoin d'enrichir mon projet de recherche avec de nouvelles questions. J'ai donc décidé d'explorer d'autres fronts de recherche durant la période 2010-2019:

1. *La découverte de la respiration non-cellulaire des sols (EXOMET).* Dans une expérimentation dédiée à l'étude du rôle de différentes espèces de champignons dans le PE, j'avais incubé des sols stérilisés et ré-inoculés avec chacune des espèces de champignons. Dans les sols témoins stérilisés mais non ré-inoculés, une production persistante de CO₂ était observable. Afin de

comprendre l'origine de cette production de CO₂ en l'absence d'organismes vivants, j'ai lancé des recherches sur ce phénomène me conduisant à la découverte d'une nouvelle voie de respiration des sols.

2. *Le développement d'applications dans la bio-énergie inspirées par la découverte de l'EXOMET.* L'EXOMET et la stabilisation des enzymes sur les particules du sol suggéraient la possibilité de construire et manipuler des métabolismes à des fins appliquées. Les recherches sur le sujet ont abouti à la construction de batteries respirantes et d'unité de stockage d'énergie faisant l'objet d'un dépôt de brevet.
3. *Le développement d'une théorie alternative de l'effet de la température sur les réactions biocatalysées.* Ces dernières années les études sur la réponse à la température de la minéralisation des MOS ont généré des résultats très contradictoires et des débats animés au sein de la communauté scientifiques. Les modèles actuels prévoient un emballement climatique alimenté par une rétroaction entre le réchauffement climatique et les sols. Cette prévision était remise en cause par des expérimentations suggérant une « acclimatation » des sols au réchauffement. L'origine de ces divergences a été examinée par la construction d'une nouvelle théorie de réponse à la température des processus biologiques considérant explicitement la dynamique des pools d'enzymes (production microbienne et inactivation) et leurs activités.
4. *La problématique de la synchronisation entre l'offre microbienne en nutriments et la demande des végétaux.* Les nouveaux modèles de flux CN intégrant explicitement les microorganismes du sol ont révélé le paradoxe de la synchronisation offre-demande dans les écosystèmes naturels. En effet, les plantes et les microorganismes étant deux entités distinctes, il y a peu de chances que leurs activités soient synchrones. Des recherches ont été lancées afin de comprendre l'origine de cette synchronisation.
5. *Construction de nouveaux systèmes de culture bio-inspirés.* Les recherches sur la synchronisation offre-demande dans les prairies permanentes mettent en lumière des régulations biologiques contribuant à une forte performance agro-environnementale de ces systèmes. Ces connaissances peuvent être mis à profit afin d'éco-concevoir des nouveaux systèmes de culture équipés de régulations biologiques contribuant ainsi au défi de l'agroécologie.

Ce document synthétise donc 15 années de recherche et présente des pistes pour le futur. La synthèse des résultats est construite en quatre parties. La première partie présente la contribution de mes recherches dans l'identification des processus de transformation des MOS en séparant les processus cellulaires et non cellulaires. Dans une deuxième partie, des modèles couplant les cycles biogéochimiques à l'écologie des microorganismes et de leurs enzymes seront présentés. Les prédictions émergeant de ces modèles et leurs tests dans des expérimentations seront présentées dans la troisième (dynamique des MOS), la quatrième (interactions sol-plante) et la cinquième partie (réponse des activités enzymatiques à la température). La sixième partie est dédiée aux applications de mes recherches pour la création de systèmes bio-inspirés dans le domaine de l'agroécologie et des biotechnologies.

SYNTHESE DES RESULTATS

1. Identification des processus de transformation des matières organiques du sol

1.1 Processus cellulaire : le priming effect

1.1.1 Contribution à la définition, démonstration et mesure du priming effect

Le terme « priming effect » (PE) a été défini pour la première fois par (Bingeman et al., 1953) comme une accélération de la minéralisation des matières organiques natives des sols (MOS) suite à un ajout de matière organique fraîche dans un sol. Plus précisément, cela correspond à un supplément de C et d’N provenant de la MOS libéré sous forme de CO_2 , NH_4^+ et NO_3^- dans un sol amendé en matières organiques fraîches comparé au même sol non amendé. La quantification du PE nécessite un marquage isotopique du carbone (^{13}C ou ^{14}C) de la matière organique fraîche ou des MOS afin de séparer ces deux sources de carbone dans les émissions de CO_2 du sol (Figure 16). Un sol témoin sans ajout de matière organique doit être également incubé afin de ne quantifier que le surplus de minéralisation correspondant au priming effect. Prenons l’exemple d’une incubation de sols avec de la cellulose marquée au ^{13}C .

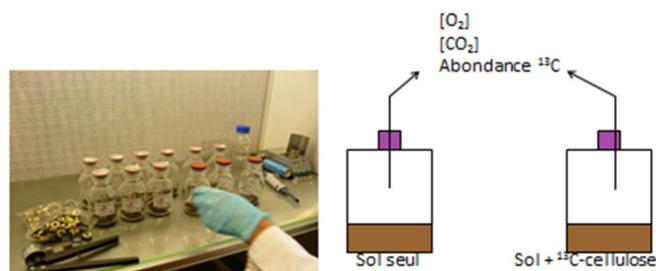


Figure 16 Incubations de sols avec de la cellulose marquée au ^{13}C .

La contribution des deux sources de carbone (carbone du sol et cellulose) dans les émissions de CO_2 peut être séparée en utilisant les équations de bilan de masse suivante :

$$R_s + R_c = R_t$$

$$R_s \times A_s^{13} + R_c \times A_c^{13} = R_t \times A_t^{13}$$

Où R_t , R_s et R_c représentent les émissions totales de CO_2 , le CO_2 provenant de la minéralisation du carbone du sol et le CO_2 provenant de la minéralisation de la cellulose, A_t^{13} , A_s^{13} et A_c^{13} représentent les abondances isotopiques ^{13}C du CO_2 total, du carbone du sol et de la cellulose. R_t et A_t^{13} sont quantifiés en analysant le CO_2 libéré dans le flacon d'incubation tandis que A_s^{13} et A_c^{13} sont déterminés en analysant le carbone du sol et la cellulose. Ces deux équations permettent de déterminer les deux inconnues R_s et R_c . Le PE peut être alors déterminé par la différence :

$$\text{PE} = (R_s \text{ sol+cellulose}) - (R_s \text{ sol témoin})$$

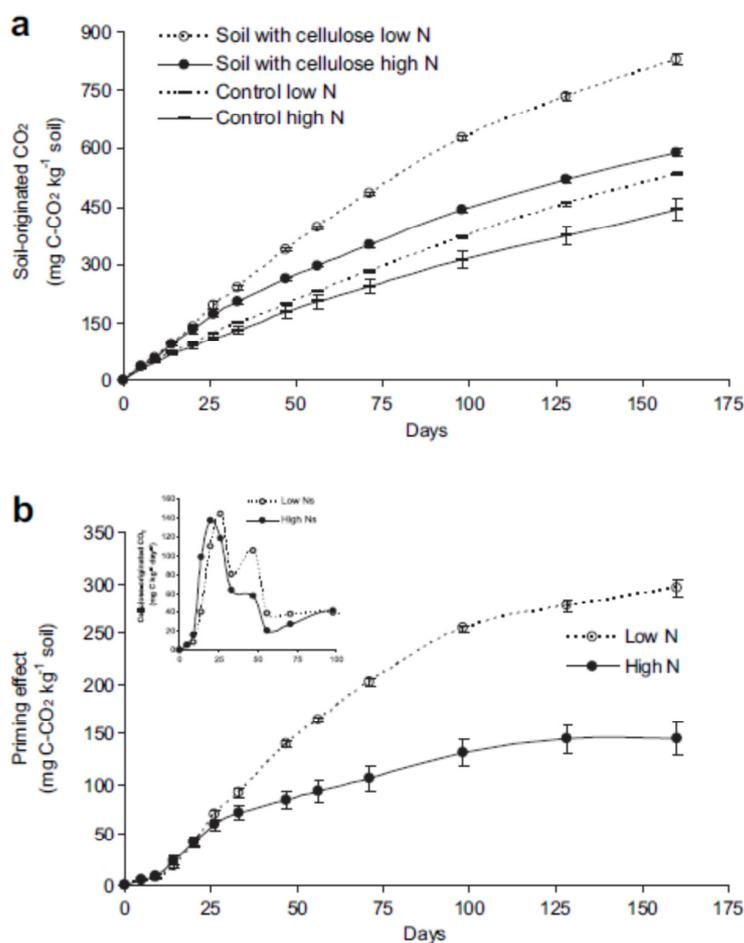


Figure 17 (a) Minéralisation cumulée du carbone non marqué d'un sol de prairie Priming effect amendé ou non avec de la cellulose. Deux traitements nutriments (avec ou sans apport de nutriments minéraux) ont été appliqués. (b) PE induit par l'apport de cellulose dans le sol de prairie.

Dans une étude publiée en 2011, je montre que le PE s'installe pendant la décomposition de la cellulose par les microorganismes et persiste plusieurs mois après l'épuisement de la cellulose (Fontaine et al.,

2011)(Figure 17). Le PE est donc un phénomène avec des dynamiques longues qui, comme je le montrerai plus tard dans ce document, aura de lourdes répercussions sur les bilans de carbone du sol suite à un apport de carbone. De plus, cette persistance du PE rejette la définition du PE proposée plus récemment par (Kuzyakov et al., 2000) et reprise à tort par une partie de la communauté scientifique : le PE serait une modification court terme du turnover des matières organiques des sols causée par un traitement relativement modéré du sol. Outre la question liée à la persistance du PE, cette définition est beaucoup trop englobante pour avoir un sens et une utilité: le mot « traitement » inclus tous les facteurs possibles (apport de nutriments, la perturbation du sol...).

L'approche isotopique est la seule méthode fiable de quantification du PE à l'heure actuelle. Cependant, elle a plusieurs défauts notamment de ne pas pouvoir déterminer précisément d'où vient le carbone non marqué du sol libéré par le PE, quels sont les pools de matières organiques concernés et par quels processus. Cette incertitude est à l'origine de la suggestion de (Dalenberg and Jager, 1989) que le PE ne correspondrait pas à une accélération de la minéralisation des MOS mais plutôt à un « artefact » de mesure sur le court terme. L'apport de carbone marqué pourrait accélérer le turnover de la biomasse microbienne, par exemple en « réveillant » des microorganismes précédemment en dormance. En remettant leur métabolisme en route il respire le carbone non marqué de leur réserve et à la place, du carbone marqué nouveau rentre dans leur biomasse (substitution isotopique du carbone). J'ai mis en place plusieurs expérimentations afin de vérifier si le PE correspond à une accélération de la minéralisation des MOS. Tout d'abord j'ai testé si le PE s'accompagnait d'une diminution de la quantité de carbone non marqué dans la biomasse microbienne.

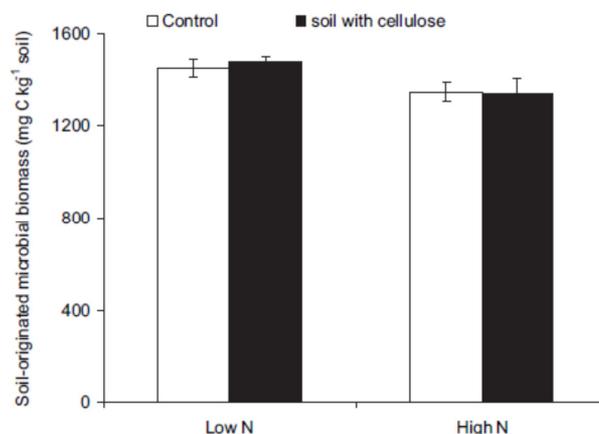


Figure 18 Carbone non marqué dans la biomasse microbienne suite à un apport de carbone marqué.

Les résultats (Fontaine et al., 2004a, 2011) montraient clairement que le carbone non marqué de la biomasse microbienne n'est pas affecté (Figure 18). J'ai testé ensuite si des apports répétés de carbone frais permettaient de maintenir le PE dans le temps ou si celui-ci s'effaçait (Shahzad et al., 2012a, 2018). Dans ces études les apports continus de matières organiques fraîches sont réalisés par une plante vivante. Ces matières fraîches correspondent aux rhizodépôts (exsudats, mucilage, débris cellulaires) et aux dépôts de litières consécutifs au renouvellement des organes (racines, feuilles). Le priming effect induit par les plantes est appelé Rhizosphère Priming Effect (RPE) afin de le différencier du

PE mesuré en incubations de laboratoire avec apport d'un composé organique. La méthode de mesure du RPE suit la même logique que celle du PE (approche isotopique, besoin d'un sol nu sans plante) mais requiert des installations lourdes et spécifiques pour le marquage ^{13}C en continu des plantes, décrites dans un article méthodologique (Cros et al., 2019).

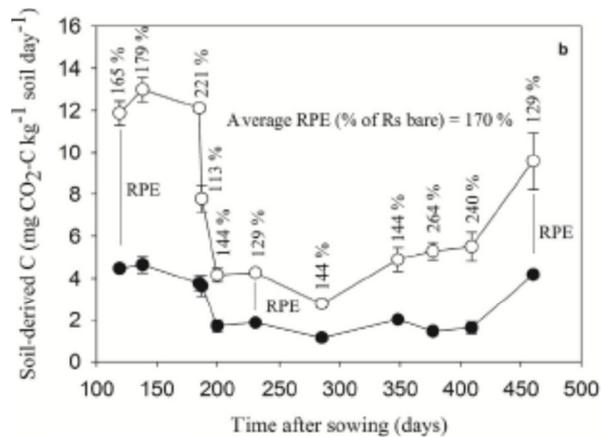


Figure 19 Evolution de la minéralisation instantanée des matières organiques du sol dans un sol nu et dans un sol avec *Festuca arundinacea* sous lumière et température naturelle pendant 460 jours. La différence de minéralisation correspond au rhizosphère priming effect.

Les résultats (Shahzad et al., 2012b, 2018) montraient que le RPE est maintenu à un niveau élevé pendant plusieurs centaines de jours (Figure 19). Par conséquent, le PE est bien le résultat d'une modification majeure de la vitesse de minéralisation des matières organiques du sol. Enfin, dans une expérimentation impliquant 35 sols avec des propriétés physico-chimiques contrastées prélevés sur cinq continents, nous avons démontré que le PE est un phénomène universel influençant les cycles biogéochimiques des écosystèmes terrestres (Perveen et al., 2019).

1.1.2 Importance quantitative du priming effect pour les flux et stock de C du sol

J'ai abordé la question de l'importance du PE pour le cycle du carbone de deux manières. La première a été effectuée dans le cadre d'incubations de laboratoire avec de la cellulose, le premier constituant des litières végétales (Fontaine et al., 2004b, 2011). Elle consistait à quantifier le PE jusqu'à son arrêt qui intervenait plusieurs mois après la fin de la décomposition de la cellulose apportée. Ensuite le PE était étudié dans des bilans de carbone du sol comparant les quantités de C de la cellulose restantes dans le sol (carbone du sol nouvellement formé) avec les quantités de carbone du sol perdues par effet PE. Comme une partie importante du carbone marqué de la cellulose restant dans le sol se trouvait dans la biomasse microbienne laquelle est recyclée en quelques mois dans la nature, des bilans de carbone ont également été effectués après fumigation, re-incolulation et incubations du sol à température élevée. Ces traitements permettaient d'accélérer le recyclage du carbone de la biomasse et donc de déterminer la quantité de carbone stable formé par l'apport de cellulose.

	Low nutrient	High nutrient
(a) PE (mg C kg ⁻¹)	-296 ± 9	-145 ± 16
(b) ¹⁴ C content of PE (%MC)	116 ± 3	nd
(c) MRT of SOC pool controlled by the PE (years)	19–34	nd
Before fumigation and incubation at elevated temperature		
(d) Total ¹³ C (mg C kg ⁻¹)	335 ± 24	329 ± 15
(e) Change in total SOC (d–a) (mg C kg ⁻¹)	+39	+184*
After fumigation and incubation at elevated temperature		
(f) Stable ¹³ C (mg C kg ⁻¹ soil)	191 ± 13	193 ± 21
(g) Change in stable SOC (f–a) (mg C kg ⁻¹)	-105*	+48*
(h) Available N in control soil (mg N kg ⁻¹)	226 ± 3	281 ± 8
(i) Available N in soil with cellulose (mg N kg ⁻¹)	210 ± 1	249 ± 3
(j) Change in N availability (i–h) (mg N kg ⁻¹)	-16*	-32*

Table 1 Bilan de carbone du sol suite à un apport de cellulose dans un sol de prairie. Deux traitements de nutriments ont été appliqués.

Les résultats montraient que les quantités de carbone perdues par le PE sont du même ordre de grandeur que le carbone PE restant dans le sol (Table 1). Sans un recyclage accéléré de la biomasse microbienne, les bilans de carbone étaient légèrement positifs signifiant que l'apport de carbone augmentait légèrement le stock de carbone du sol en fin d'incubation. Cependant, les bilans de carbone stable du sol obtenus après recyclage de la biomasse microbienne étaient positifs ou négatifs selon les traitements et les sols. Les bilans négatifs signifient que, du fait d'un PE très fort dans certaines conditions, l'apport de carbone peut diminuer le stock de carbone des sols. Ces résultats montrent toute la complexité du processus de stockage de carbone qui demande une compréhension fine de l'écosystème sol. Une deuxième manière d'aborder l'importance quantitative du PE a été de déterminer l'augmentation de la minéralisation du carbone du sol induit par des plantes adultes et leurs dépôts de matières organiques fraîches. Le rhizosphère priming effect était donc exprimé en % de la minéralisation du carbone du sol observée dans le sol témoin sans plante (RPE)(Figure 20).

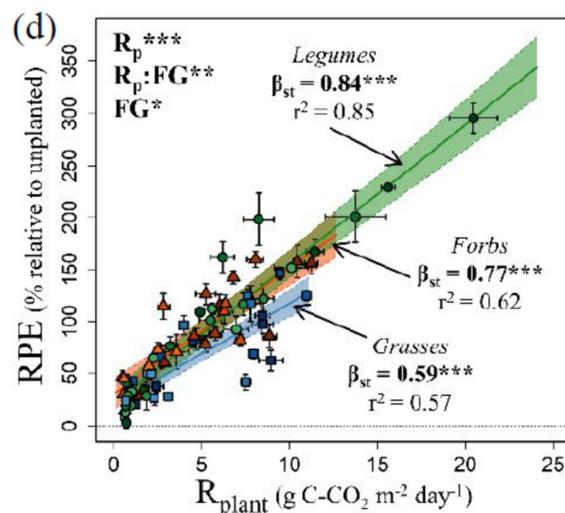


Figure 20 Rhizosphère priming effect exprimé en % de la minéralisation du carbone du sol témoin (sans plante) induit par différentes espèces végétales appartenant à trois groupes fonctionnels : les légumineuses (en vert), les herbacées à fleurs (en brun) et les graminées (en bleu).

Ce RPE% a ainsi été mesuré chez douze espèces appartenant à trois groupes fonctionnels distincts cosmopolites des prairies permanentes des milieux tempérés (Henneron et al., 2019; Shahzad et al., 2012c, 2018). Les résultats montraient des RPE% variables selon les groupes fonctionnels, le stade de développement et le degré d'activité des plantes, caractérisé ici par le niveau de respiration des plantes (R_{plant} , Figure 20). Pour des plantes bien installées de plusieurs mois, le RPE induit par les plantes représente une augmentation de 50 à 300% de la minéralisation par rapport au sol témoin sans plante (Henneron et al., En révision). Ces résultats démontrent l'influence profonde des racines sur les flux de carbone des sols.

1.1.3 La sensibilité des différentes fractions de matières organiques du sol au priming

De nombreuses expérimentations reportent maintenant la très forte accélération de la minéralisation des MOS induite par les plantes. Cependant, les MOS sont composées de différentes fractions variables en termes de composition chimique, de liaisons avec les minéraux du sol, de temps de résidence et de fonctions dans les écosystèmes. De plus, la nature des minéraux et des liaisons chimiques entre la matière organique et les minéraux sont très variables entre les types de sol. Connaître la sensibilité de ces différents compartiments de MOS au RPE est crucial pour comprendre l'étendue du contrôle des MOS par le RPE. J'ai étudié cette sensibilité pour trois fractions (fraction légère LF 250-2000 μm , fraction intermédiaire IF 53-250 μm et fraction minérale MF < 53 μm) extraites de deux types de sol (un cambisol et un andosol) avec des minéralogies contrastées (*allophane versus illite-kaolinite*). Le RPE était induit par les racines de plantes de maïs cultivé sur des pots. Ces pots contenaient un substrat neutre et dépourvu de carbone (pouzzolane) et quatre cylindres de PVC renfermant les fractions de MOS extraites. Les extrémités des cylindres étaient fermées par un filet retenant les fractions mais laissant passer les racines. Des cylindres de PVC remplis de sol entier (non fractionné) ont également été préparés et incubés en présence de racines de maïs.

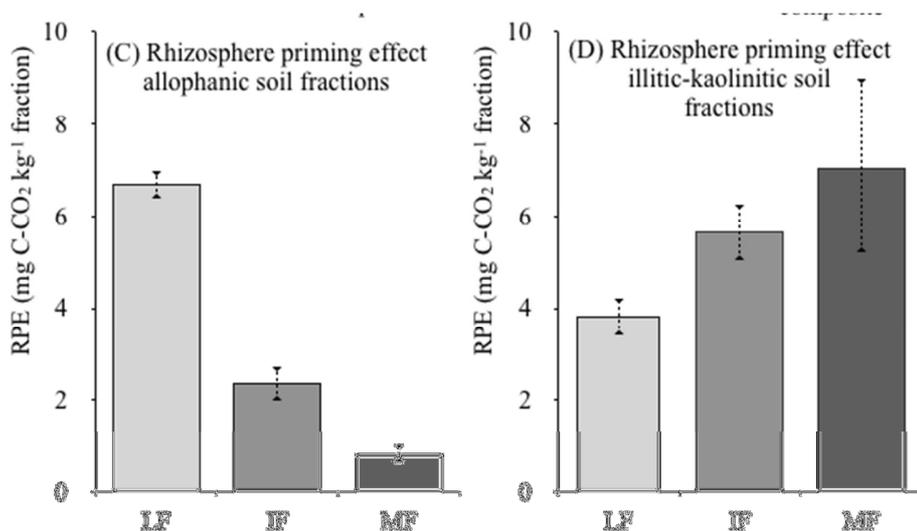


Figure 21 RPE induit par les racines d'un plant de maïs colonisant des capsules remplies avec différentes fractions de MOS (LF, IF et MF pour fraction légère, intermédiaire et minérale respectivement) extraites de deux sols à la minéralogie contrastée (*allophane versus illite-kaolinite*).

Les résultats montraient un RPE sur toutes les fractions des MOS c'est-à-dire que l'accélération de la minéralisation microbienne induite par les plantes contrôle globalement les MOS (Merino, 2015)(Figure 21). Il est remarquable que le PE affecte également les fractions organiques considérées jusqu'à présent comme protégées de la minéralisation microbienne du fait de leurs liaisons avec les minéraux du sol (MF fractions). Néanmoins, l'intensité du RPE était très variable entre les fractions et les types de sol. Dans le sol où les minéraux ont une plus faible réactivité avec la matière organique (illite-kaolinite), l'intensité du RPE augmentait vers les fractions fines. Au contraire, dans l'andosol, l'intensité diminuait vers les fines particules. Globalement, la variation de l'intensité du PE était expliquée par le C/N et la teneur en minéraux complexant la matière organique (SiO)(Figure 22), l'intensité du PE augmentant avec la teneur en N des fractions et diminuant avec la teneur en minéraux complexant.

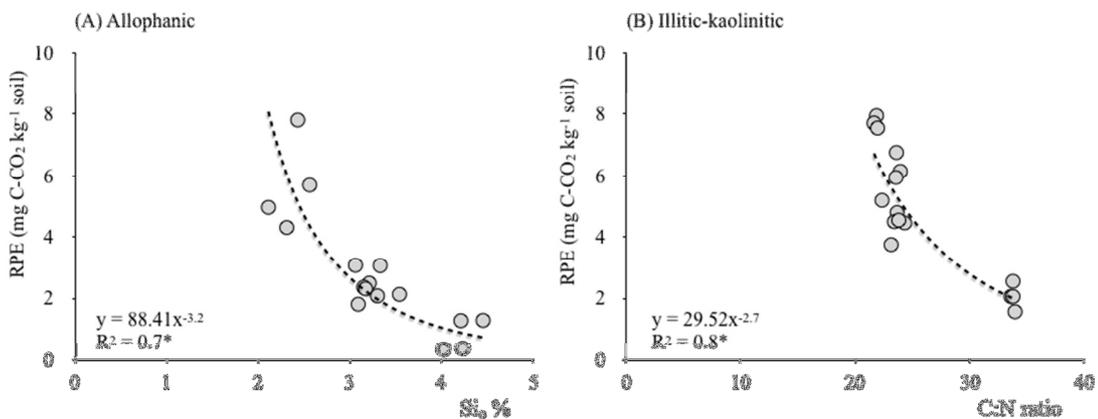


Figure 22 Relations entre le rhizosphère priming effect induit par un plant de maïs, le C/N et la teneur en SiO des fractions de matière organique testées.

Enfin, le calcul d'un RPE composite sur la base des RPE de chaque fraction a été calculé et comparé au RPE observé dans le sol entier. Pour les types de sol, le RPE composite était supérieure au RPE du sol entier suggérant une protection du carbone du sol *vis-à-vis* du RPE par l'assemblage des fractions de sol en agrégats. Une étude récente supporte cette idée en montrant qu'une réduction du travail du sol diminue l'intensité du priming favorisant une accumulation du carbone du sol (Sauvadet et al., 2018).

1.1.4 Les mécanismes du PE : nouvel éclairage sur l'origine de l'accumulation de matière organique dans les sols

C'est en m'intéressant aux mécanismes microbiens à l'origine de ce PE que j'ai compris que les théories proposées pour expliquer l'accumulation de MOS dans les sols devaient être revues. Les MOS viennent de la transformation des litières, des rhizodépôts et autres organismes morts (microorganismes, faune) par les organismes du sol (Figure 23). La faune du sol fragmente les matières organiques de grandes tailles (cm-mm) en plus petite taille constituant un continuum de litières respirant au passage une partie du carbone. Les microorganismes hétérotrophes prennent en charge ces matières organiques du continuum ainsi que les rhizodépôts. Une grande partie de ce carbone organique est oxydé en CO₂ au cours du processus de respiration. Cependant, les microorganismes libèrent également des composés organiques de petite taille qui ne sont pas ou peu dégradés. Ces composés peuvent s'agréger en

macromolécules et/ou se lier aux minéraux du sol, formant ce qu'on appelle les substances humiques des sols bien que ce terme soit ardemment débattu en ce moment (Chilom et al., 2013; Francesconi and Chorover, 2010; Kleber et al., 2007; Kleber, 2010; Marschner et al., 2008; Sutton and Sposito, 2005). Le terme plus neutre de matière organique agrégée (MOA) sera utilisé par la suite.

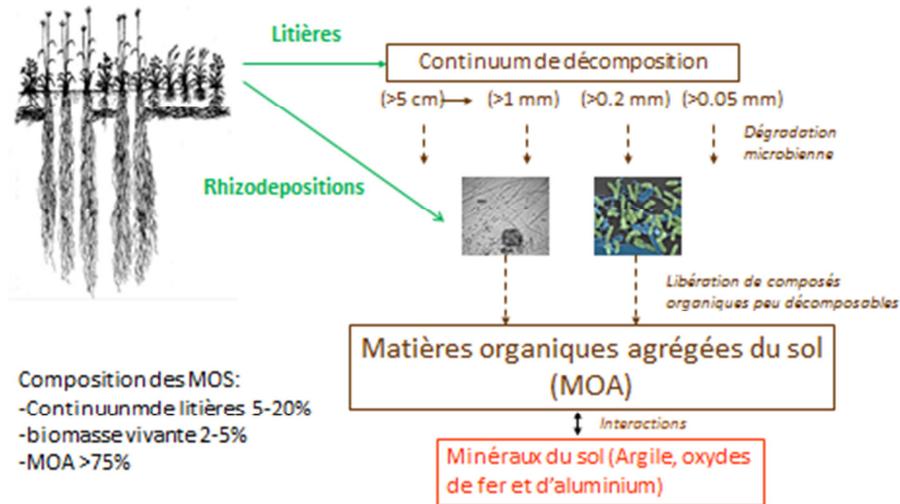
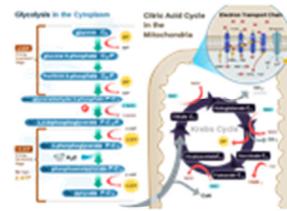


Figure 23 Formation des matières organiques agrégées (humifiées) des sols

Afin d'expliquer la très lente décomposition des MOA plusieurs hypothèses étaient proposées : 1) les microorganismes libèrent des composés récalcitrants, ayant pour origine les plantes ou les microorganismes eux-mêmes, pour lesquelles il n'existe pas d'enzymes efficaces, 2) les déchets organiques s'adsorbent sur les particules fines du sol ($< 2\mu\text{m}$) formant des liaisons chimiques avec les minéraux tels que les argiles minéralogiques (phyllosilicates) ainsi que différentes formes d'oxyhydroxydes de métaux et d'aluminosilicates. Ces liaisons ne peuvent être cassées par les microorganismes et rendent inaccessibles la matière organique. Cependant, les travaux sur le PE vont apporter un nouvel éclairage : tous les pools de MOS peuvent être minéralisés par les microorganismes du sol si une source supplémentaire de carbone, riche en énergie, leur est apportée. Le caractère énergétique de la matière organique fraîche apportée par les végétaux est visible dans la forte stimulation des activités enzymatiques, de respiration et de croissance des microorganismes. La très lente minéralisation des MOA serait due à une limitation énergétique des microorganismes. L'activité des microorganismes et la dégradation des MOS sont donc pilotés par le bilan gains/dépenses d'énergie des microorganismes (Figure 24).

Gains: ATP produit lors du métabolisme oxydatif (Glycolyse, cycle de Krebs etc)



Dépenses d'ATP:

- Entretien de la cellule (métabolismes, génome etc)
- Production d'enzymes extracellulaires
- Intégralité de la cellule (Défenses/attaques/adaptation)
- Duplication cellulaire

- Si gains > dépenses: prolifération des microorganismes jusqu'à épuisement du substrat.
- Si gains < dépenses : mortalité, dormance ou sporulation. Pas de dégradation du substrat.

Figure 24 Bilan gains/dépenses d'énergie pilotant l'activité des microorganismes du sol.

Les gains d'énergie des microorganismes correspondent à l'ATP formé au cours de la respiration et après assimilation du carbone par la cellule. Il faut bien se rendre compte que ce gain en énergie peut être très différent de l'énergie disponible dans les molécules d'un point de vue purement thermodynamique. En effet, les microorganismes sont contraints par leurs voies métaboliques qui ne peuvent pas exploiter toutes les liaisons chimiques. Le cycle de Krebs qui est la machinerie énergétique commune à la plupart des êtres vivants exploite l'énergie associée aux liaisons hydrogènes (C-H) et leurs électrons. Par exemple, le charbon qui contient beaucoup d'énergie dans des liaisons carbonées (C-C) n'est pas une source d'énergie utilisable par les microorganismes.

Les types de dépenses énergétiques des microorganismes sont très variées (Figure 24). Cependant, les dépenses associées à la dégradation des matières organiques du sol vont déterminer en grande partie le développement microbien et par ricochet le devenir de ces matières organiques. En effet, la majorité des MOS, et en particulier les MOA, n'est pas directement assimilable par les microorganismes du sol car insoluble, de trop grosse taille et/ou liée à des minéraux.

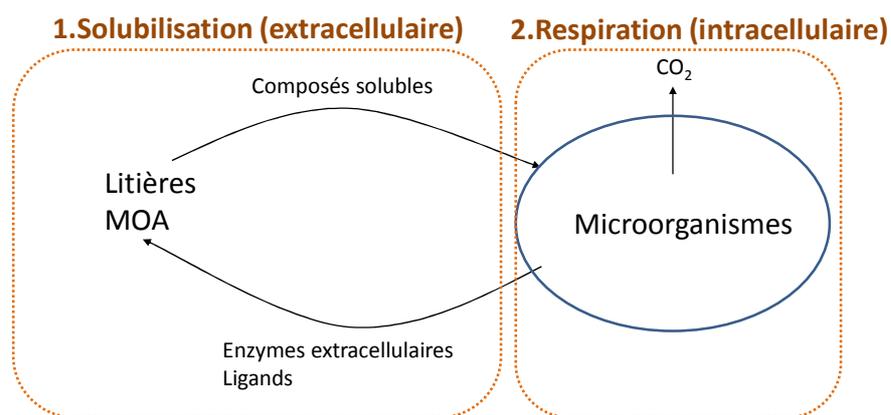


Figure 25 Les deux étapes de la dégradation des matières organiques par les microorganismes du sol.

Par conséquent, les microorganismes secrètent des enzymes extracellulaires qui vont dépolymériser les macromolécules libérant des composés solubles assimilables (Figure 25). Les microorganismes peuvent également sécréter des ligands libérant les composés organiques des minéraux. Se déroulant à l'extérieur des cellules microbiennes, ces réactions de dépolymérisation et de désorption se produisent dans des conditions loin d'être optimales, à la fois pour les réactions elles-mêmes (conditions redox) et les catalyseurs de ces réactions (inactivation des enzymes).

Deux cas de figure du bilan énergétique des microorganismes peuvent être considérés. Un bilan énergétique positif. Dans ce cas, les microorganismes prolifèrent jusqu'à épuisement des substrats. La minéralisation des matières organiques fraîches déposées par les végétaux conduirait à cette situation. Elles sont très riches en énergie (riche en liaisons C-H exploitables par les métabolismes respiratoires), solubles et assimilables (e.g. rhizodépôts) ou insolubles mais facilement accessibles car concentrées sur des « hotspots » tels que la détritosphère et la rhizosphère. Elles sont généralement entièrement dégradées en quelques heures lorsqu'il s'agit de certains rhizodépôts à plusieurs mois pour les litières. Au contraire, la minéralisation des matières organiques agrégées (MOA) conduirait à un bilan énergétique négatif car ces composés organiques sont :

- plus pauvres en énergie car déjà oxydés par les microorganismes (moins de liaisons C-H)
- liés aux minéraux nécessitant la production de ligands pour être désorbés
- fortement dispersés dans les pores du sol dont la majorité n'est pas accessible par les microorganismes. Les enzymes de dépolymérisation doivent diffuser sur de longues distances au cours desquelles elles sont en partie inactivées représentant une perte énergétique pour les microorganismes.

Néanmoins, comme le démontre le PE, les microorganismes ont développé un co-métabolisme afin de dégrader les MOA en utilisant l'énergie des matières organiques fraîches (Figure 26). Cette énergie est utilisée par les microorganismes dans le but de produire des enzymes extracellulaires dépolymérisant les MOA.

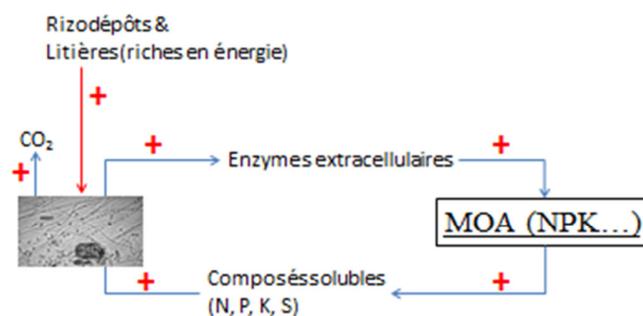


Figure 26 Co-métabolisme développé par certains microorganismes du sol afin de minéraliser les MOA. Ce co-métabolisme serait à l'origine du priming effect.

L'évolution aurait sélectionné les microorganismes développant cette capacité de co-métabolisme car elle leur apporterait un avantage, celui de pouvoir accéder aux nombreux nutriments (NPK...) présents dans les MOA. Cette source de nutriments organiques peut être très utile aux microorganismes pour

satisfaire leurs fortes contraintes stœchiométriques car les ratios C/N et C/P des litières végétales sont très élevés par rapport à ceux des microorganismes et la disponibilité en nutriments sous forme minérale, autre source d'azote, est très faible. Cette hypothèse de « mining » des nutriments dans les MOA (Fontaine et al., 2004b, 2011) est supportée par un co-métabolisme (PE) préférentiel sur les fractions organiques riches en N (Merino, 2015) et des flux (bruts) de minéralisation de l'N du sol supérieurs en présence de RPE (Cros, 2019). De nombreux autres mécanismes ont été proposés afin d'expliquer le PE (Keiluweit et al., 2015; Kuzyakov et al., 2000) mais ne sont pas tous présentés ici par souci de synthèse. Cependant, je mentionnerai un deuxième mécanisme afin d'expliquer comment le PE peut concerner des fractions organiques liées aux minéraux considérées jusqu'à présent protégées de la dégradation microbienne (Merino, 2015)(Figure 27). Les microorganismes ou les plantes peuvent sécréter des ligands qui vont se fixer sur les minéraux à la place des matières organiques. Une fois désorbées ces matières organiques deviennent accessibles aux microorganismes. Un mécanisme similaire a déjà été démontré pour libérer le phosphore des minéraux. Les microorganismes pourraient également produire des enzymes cassant les liaisons entre les matières organiques et les minéraux mais je n'ai trouvé aucune littérature à ce sujet.

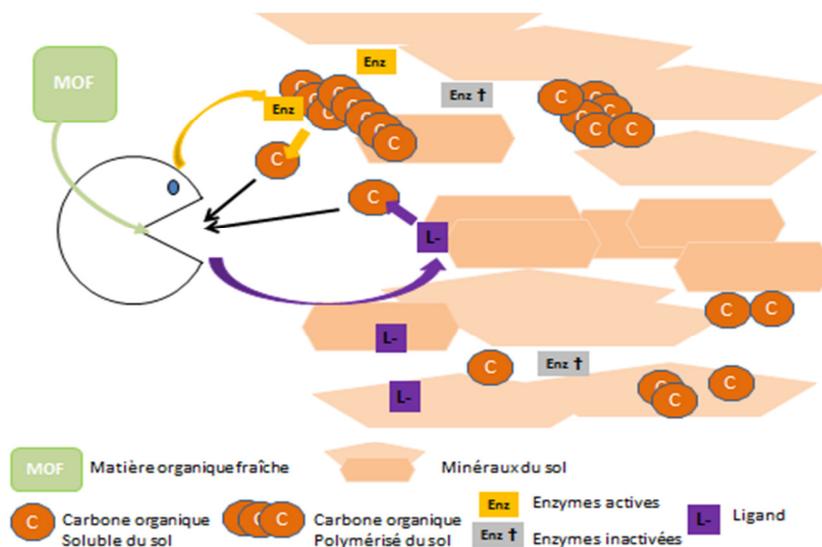


Figure 27 Principaux mécanismes à l'origine du priming effect induit par l'apport d'une matière organique fraîche dans un sol

1.1.5 Les acteurs microbiens du PE

Dans un papier d'opinion publié en 2003 sur le PE (Fontaine et al., 2003) j'avais suggéré que l'intensité du PE pourrait dépendre de la compétition pour l'utilisation de la matière organique fraîche entre deux groupes fonctionnels microbiens du sol. Ce travail s'inspire des successions des communautés microbiennes pendant la décomposition des litières démontrant une certaine spécialisation des communautés microbiennes dans les substrats à dégrader. Ainsi il propose qu'en plus du groupe de microorganismes réalisant le co-métabolisme à l'origine du PE (« groupe microbien K » dans la théorie) il existe un groupe qui ne minéralise que la matière organique fraîche (« groupe microbien r » dans la théorie) et immobiliserait les nutriments minéraux pour leurs besoins nutritionnels (Figure 28).

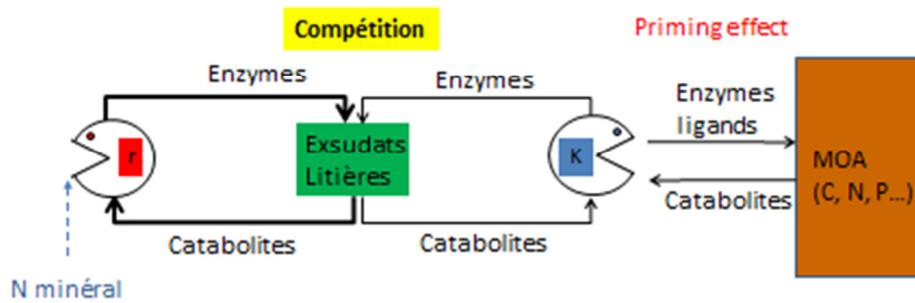


Figure 28 L'intensité du priming effect déterminé par la compétition microbienne r/K.

Cette hypothèse a été testée dans une incubation de laboratoire en adoptant une approche DNA SIP (Pascual et al., 2013). Le principe de l'approche DNA SIP est d'apporter des matières organiques marquées à 99% avec l'isotope lourd du carbone (^{13}C) et de tracer son incorporation dans l'ADN des microorganismes. Dans notre expérimentation deux types de matières organiques fraîches marquées au ^{13}C étaient testées : de la litière aérienne de luzerne et de la paille de blé. D'après la théorie r/K (Figure 29), les microorganismes du groupe r ne devraient incorporer que du ^{13}C puisqu'ils sont spécialisés dans la dégradation des matières organiques fraîches tandis que les microorganismes du groupe K devraient incorporer du ^{13}C et le ^{12}C des MOA. L'ADN microbien a été extrait du sol et ultracentrifugé afin de séparer les brins d'ADN selon leur masse qui varie avec la proportion $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$. Plusieurs fractions d'ADN de masses distinctes ont ainsi été récoltées et séquencées (ADN ribosomique 16S) pour la détermination des populations bactériennes.

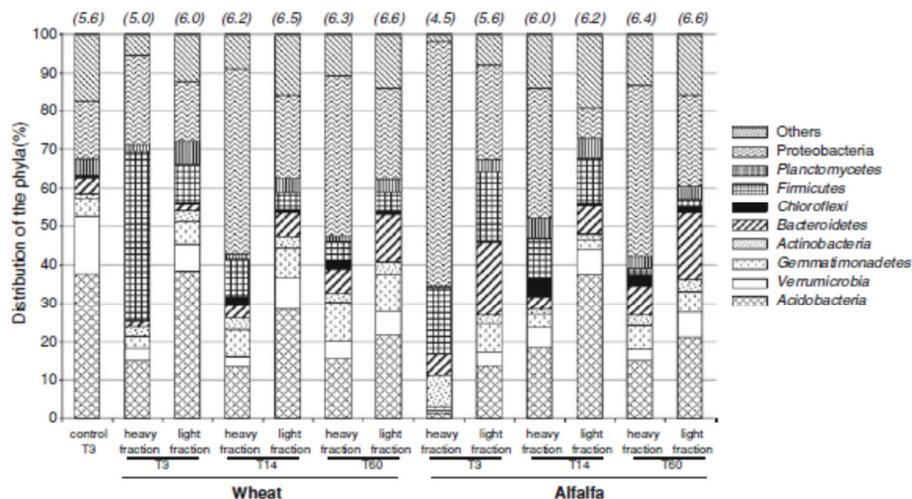


Figure 29 Classification à l'échelle du phylum des séquences ADN des bactéries extraites du sol à différents temps d'incubations du sol avec les pailles de blé ou la luzerne marquées avec du carbone lourd (^{13}C). Les fractions lourdes (riche en ^{13}C) ou légères (riche en ^{12}C) de l'ADN ont été séparées par ultracentrifugation.

Les résultats supportaient l'existence des deux groupes fonctionnels microbiens avec des bactéries basant leur croissance plutôt sur l'utilisation du carbone lourd (^{13}C) des matières organiques fraîches et

des bactéries se développant sur un mixte des deux sources (^{13}C et ^{12}C)(Figure 29). Les bactéries responsables du priming effect (groupe microbien K) étaient dominées par les phylums Acidobacteria, Verrucomicrobia, and Gemmatimonadetes. Les phylums des bactéries spécialisées dans la dégradation des matières organiques fraîches (groupe microbien r) différaient entre le blé et la luzerne, mais correspondaient la plupart du temps à des phylums caractéristiques de microorganismes « opportunistes » à croissance rapide.

Les deux types de matières organiques généraient des intensités de PE différentes. Ces différences pouvaient être corrélées à des variations d'abondance relative des deux groupes fonctionnels r et K caractérisés *via* l'approche DNA-SIP. Ces résultats supportent donc l'idée d'une compétition microbienne contrôlant le PE et les flux de carbone et d'azote du sol associés.

La limite de l'étude précédente est qu'elle ne s'intéressait qu'au groupe bactérien. Cette limite est expliquée par le fait que les outils ADN concernant les champignons étaient peu développés à cette époque. J'ai donc complété mes recherches sur les microorganismes impliqués dans le PE en utilisant une autre approche : l'analyse des phospholipides microbiens (PLFA). L'avantage de cette approche est qu'elle permet de suivre la biomasse des communautés bactériennes et fongiques. Son inconvénient est qu'elle est très peu résolutive, seulement cinq à six groupes microbiens peuvent être séparés alors que plusieurs millions de populations différentes de microorganismes sont présentes dans les sols. Le PE et les PLFA microbiens ont été mesurés dans une incubation de laboratoire après apport de cellulose et dans une expérimentation avec une plante, *Festuca arundinacea* (Fontaine et al., 2011; Shahzad et al., 2018). Dans les deux cas, le RPE était fortement corrélé avec le PLFA d'un groupe de champignons (18:2w6c) suggérant que les champignons jouent un rôle prépondérant dans le PE (Figure 30).

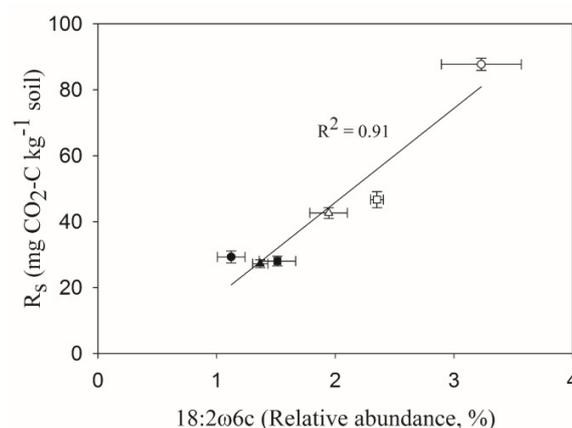


Figure 30 Corrélation entre la minéralisation des matières organiques des sols (incluant le priming effect).

Cette prépondérance des champignons dans le PE peut être expliquée par la structure en hyphes de ces organismes leur conférant l'unique possibilité d'être en même temps au contact de la matière organique fraîche, laquelle est souvent très localisée (litières en décomposition, rhizosphère) et des MOA qui sont largement dispersées dans le sol. Afin d'illustrer les dimensions spatiales du PE, j'ai calculé que le PE induit par l'apport de cellulose représentait une destruction totale des MOA sur un rayon d'au moins 200 μm autour des grains de cellulose, soit en moyenne 200 fois la taille des cellules bactériennes.

1.1.6 Les différentes voies d'induction du priming par les plantes (Mycorhizes, exsudats et litières)

Mes travaux (Shahzad et al., 2012a, 2018) supportés par d'autres (Cheng et al., 2013) montraient une très forte stimulation de la minéralisation des MOA induite par les racines des plantes. Cependant, les différents mécanismes et leur contribution relative à ce rhizosphère priming effect (REP) restaient mal compris. Par conséquent, j'ai lancé des recherches sur le sujet et mis en place une expérimentation afin de tester la contribution au RPE de trois grands types de mécanismes (Shahzad et al., 2015).

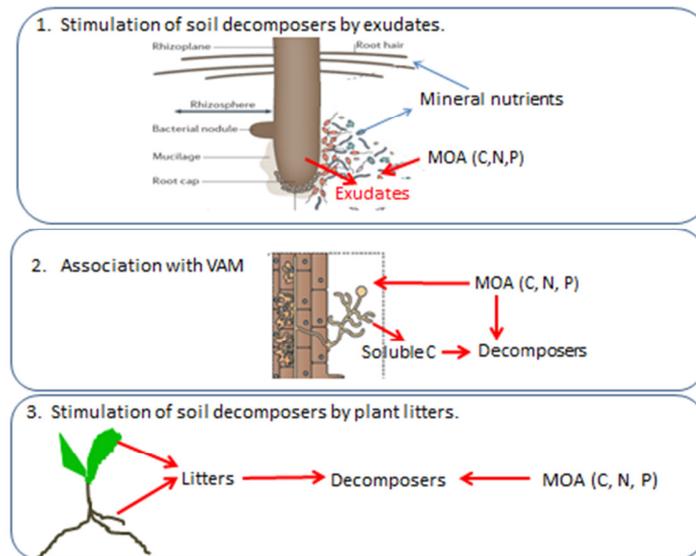


Figure 31 Trois mécanismes par lesquelles les plantes pourraient stimuler la minéralisation des matières organiques agrégées du sol, produisant un rhizosphère priming effect.

Un premier type de mécanismes proposé il y a plus de trente ans par (Clarholm, 1985) concerne la production d'exsudats dans la rhizosphère des plantes (Figure 31). Ces composés riches en énergie pourraient stimuler la minéralisation des MOA par les microorganismes hétérotrophes qui ont besoin de nutriments pour leur croissance. La biomasse microbienne est ensuite recyclée par la microfaune du sol libérant des nutriments minéraux disponibles pour la nutrition minérale de la plante. Par ce mécanisme la plante contrôlerait sa propre nutrition minérale. L'implication des endomycorhizes dans la minéralisation des MOA serait le deuxième type de mécanismes (Figure 31). Les champignons mycorhiziens sont engagés dans une symbiose avec les racines des végétaux dans laquelle les racines fournissent le carbone énergétique et les champignons l'eau et les nutriments. Jusqu'à présent on affecte aux endomycorhizes un rôle dans l'absorption et le transfert des nutriments minéraux dont la disponibilité est très faible dans le sol. Cependant, le rôle des mycorhizes dans la nutrition des plantes pourrait être beaucoup plus profond en participant directement ou indirectement à la minéralisation des MOS, une source de nutriments quasi illimitée pour les plantes. Cette participation pourrait se faire en produisant directement les enzymes de la dégradation des MOA ou en déposant du carbone énergétique à des décomposeurs disposant des enzymes de dégradation des MOA. Enfin, le troisième type de mécanismes correspond au RPE induit par le dépôt de litières riche en énergie. Nul ne doute que ce

mécanisme existe puisqu'il a été mesuré lors d'incubations de sol mais la contribution relative des trois mécanismes au RPE reste méconnue.

La contribution de ces trois mécanismes au RPE a été estimée pour la première fois grâce à une approche originale permettant la séparation physique de ces mécanismes se produisant habituellement ensemble dans la rhizosphère (Shahzad et al., 2015). Cette séparation se base sur l'utilisation de filets à mailles micrométriques séparant les racines de la matrice sol (Figure 32). Trois types de tailles de mailles étaient utilisés : 1) <0,2 micron perméable aux exsudats uniquement, 2) 30 microns perméable aux exsudats et les mycorhizes et 3) 1 mm perméable à l'ensemble exsudats-mycorhizes-racines (avec leur dépôt de litières). Trois espèces d'herbacées communes des prairies étaient testées : *Lolium perenne*, *Trifolium repens* et *Poa trivialis*.

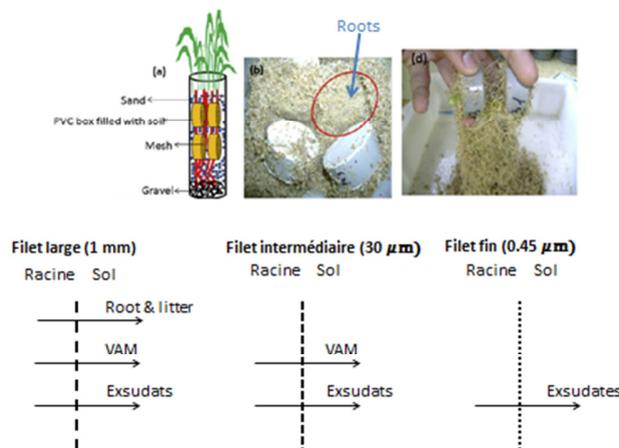


Figure 32 Approche expérimentale pour séparer la contribution des endomycorhizes, des exsudats et du dépôts de litières au rhizosphère priming effect

Les résultats montraient que pour les trois espèces de plante étudiées le PE est essentiellement induit par l'exsudation (Figure 33). En effet, le PE induit par le passage des seuls exsudats dans le sol représentaient 62 à 76% du PE du traitement de référence où les racines étaient autorisées à pénétrer dans le sol. Il n'y avait pas de différence significative entre les PE induits par le passage des seuls exsudats ou des exsudats et mycorhizes suggérant une contribution nulle des mycorhizes au PE. Par différence, la contribution des dépôts de litières au RPE était estimée à 24-38% selon les espèces de plantes.

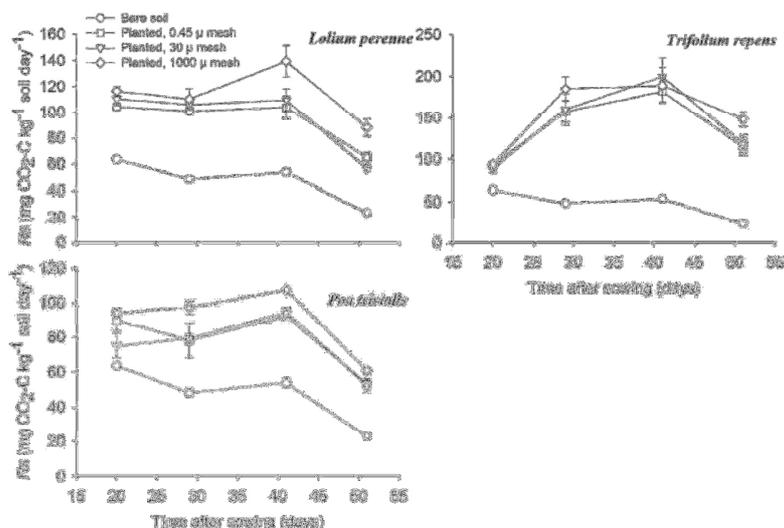


Figure 33 Effet sur le rhizosphère priming effect des mailles micrométriques utilisées pour séparer l'effet exsudats, des endomycorhizes et du dépôt de litières. Trois espèces de espèces de plantes étaient testées (*Lolium perenne*, *Trifolium repens*, *Poa Trivialis*).

Ces premières estimations ont des limites : 1) les plantes étaient relativement jeunes (1,5 mois) signifiant que le dépôt des litières et sa contribution au RPE sont sans doute sous-estimés et 2) la contribution au RPE des différents mécanismes est calculée par différence faisant l'hypothèse d'une additivité de ces mécanismes. Hors des interactions entre les mécanismes pourraient exister. Par exemple, la mycorhization des racines pourrait diminuer l'allocation de carbone des racines aux exsudats réduisant le RPE induit par cette voie. Néanmoins, ces résultats ont le mérite de montrer le pouvoir important des exsudats dans l'induction du RPE par les plantes. De plus, il est intéressant de mettre en relation le très fort effet des exsudats dans cette expérimentation, utilisant des plantes vivantes, avec le faible PE observé dans des incubations de sols où l'exsudation est mimée par l'apport de sucres ou d'acides aminés. Le faible PE dans les incubations de laboratoire est expliqué par la prolifération des microorganismes opportunistes ne minéralisant pas les MOA (groupe fonctionnel r). Nous pouvons donc en déduire que la plante couple le dépôt de composés riches en énergie à d'autres mécanismes permettant de stimuler spécifiquement les décomposeurs des MOA (groupe fonctionnel K). La tâche est compliquée pour la plante car elle doit pouvoir faire le « tri » entre des millions de populations microbiennes différentes. Certaines études suggèrent que le prélèvement de nutriments minéraux par la plante pourrait favoriser le groupe fonctionnel K (Clarholm, 1985; Fontaine and Barot, 2005). Cependant, les rhizodépôts sont parfois riches en nutriments, en particulier en azote dans le cas des légumineuses. Ainsi il semblerait que d'autres mécanismes plus fins soient mobilisés tels que des dialogues chimiques avec les communautés microbiennes du sol. Par exemple, les plantes émettent des molécules impliquées dans le quorum sensing des microorganismes (Duchene et al., 2017). Par cette voie la plante pourrait stimuler des microorganismes de type K qui se chargeraient d'inhiber les microorganismes de type r via la production d'antibiotiques.

1.2 Processus non cellulaire

1.2.1 Découverte d'un métabolisme oxydatif extracellulaire (EXOMET)

Après plus de 10 ans de recherche sur le PE, j'ai ressenti le besoin de renouveler mes questions de recherches. Une occasion s'est présentée lorsque j'ai commencé à observer une production importante de CO₂ (40% par rapport au sol témoin vivant) dans des sols débarrassés de toute forme de vie suite à une exposition à des irradiations γ . L'incubation de ces sols irradiés faisait partie d'une expérimentation plus large s'intéressant au rôle de champignons dans le PE. Mes collègues en microbiologie avaient déjà observé ce phénomène sans s'y intéresser. J'ai pensé que ce phénomène, par son ampleur et les questions qu'il soulève, méritaient un peu plus d'attention. Ce fut le début d'une longue exploration sur les métabolismes extracellulaires des sols impliquant le LMGE de l'Université Clermont Auvergne et l'IATE de SupAgro Montpellier (Kéroual et al., 2016, 2018; Maire et al., 2013a).

Jusqu'à présent, il était admis que la respiration ne pouvait se réaliser qu'au sein d'un milieu intracellulaire, dans lequel les enzymes sont protégées à l'intérieur de compartiments cellulaires aux conditions physico-chimiques précises. Ces enzymes et l'organisation cellulaire assurent le déroulement de métabolismes complexes comme la glycolyse et le cycle de Krebs où plusieurs centaines de réactions chimiques sont couplées. Pourtant l'incubation de sols stérilisés aux rayons γ montrait des productions importantes et persistantes (>plusieurs mois) de CO₂. Dans un premier temps, nous avons engagés de nombreuses investigations afin de vérifier la stérilité du sol. Ces investigations se basaient sur les dernières technologies de détection des activités microbiennes : marqueurs moléculaires du métabolisme cellulaire (ADN, ARN, accepteurs d'électrons) couplés à la microscopie à fluorescences et à la microscopie électronique à transmissions. Tous les résultats convergeaient vers une absence complète de cellules actives malgré la présence de résidus de cellules visibles (Figure 34).

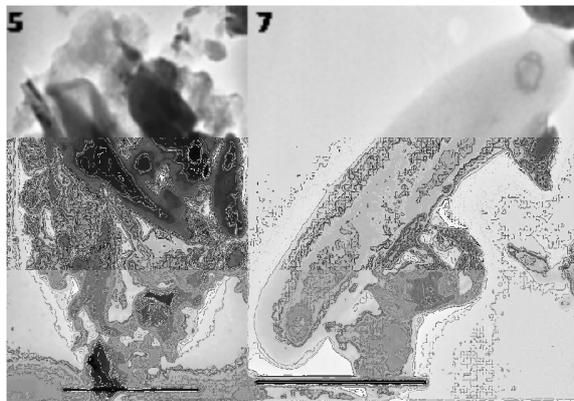


Figure 34 Photographies de cellules microbiennes après (5) et avant (7) exposition des sols à une irradiation gamma de 45 kGy. Le trait représente 500 nm.

La poursuite des investigations a permis de montrer que la libération de CO₂ était associée à une consommation d'O₂ suggérant la décarboxylation de carbone organique avec transfert d'électrons du carbone organique sur l'oxygène. La véracité de cette hypothèse a été testée par l'ajout de glucose marqué au ¹³C dans le sol irradié. Le glucose étant molécule très stable sa décarboxylation requiert soit des températures très élevées (>500°C) soit des catalyseurs et des métabolismes complexes comme la

glycolyse et le cycle de Krebs. Ces métabolismes permettent de réaliser la dégradation du glucose par étapes et de fractionner ainsi l'énergie d'activation de la réaction de décarboxylation. Le suivi des émissions de CO₂ et de sa composition isotopique confirmaient la capacité du sol à minéraliser le glucose en CO₂. Le glucose est une molécule extrêmement stable dont l'oxydation par voie physique réclame plus de 500°C. Par conséquent, sa minéralisation dans le sol stérile doit nécessairement impliquer des catalyseurs abaissant l'énergie d'activation de la réaction de minéralisation. Nous avons tout d'abord fait l'hypothèse que ces catalyseurs pouvaient être des enzymes intracellulaires des organismes libérés suite à leur mort et dont l'activité persisterait dans le sol. Cette hypothèse a été testée par la mise en place d'une incubation de laboratoire impliquant l'ajout dans un sol stérilisé d'enzymes « pures » (commerciales) catalysant pour des réactions de la glycolyse et le cycle de Krebs. Le suivi du devenir de l'activité des enzymes a permis de conclure que certaines enzymes intracellulaires libérées par les organismes ne sont pas entièrement inactivées dans le sol. Une petite fraction des enzymes va se stabiliser sur les particules fines du sol et maintenir son activité sur des durées très longues (demi-vie de plusieurs dizaines à centaines de jours)(Figure 35). Par conséquent, les liaisons organominérales ne font pas que protéger les matières organiques de l'oxydation microbienne (Torn et al., 1997) mais préservent également les fonctions catalytiques de ces matières.

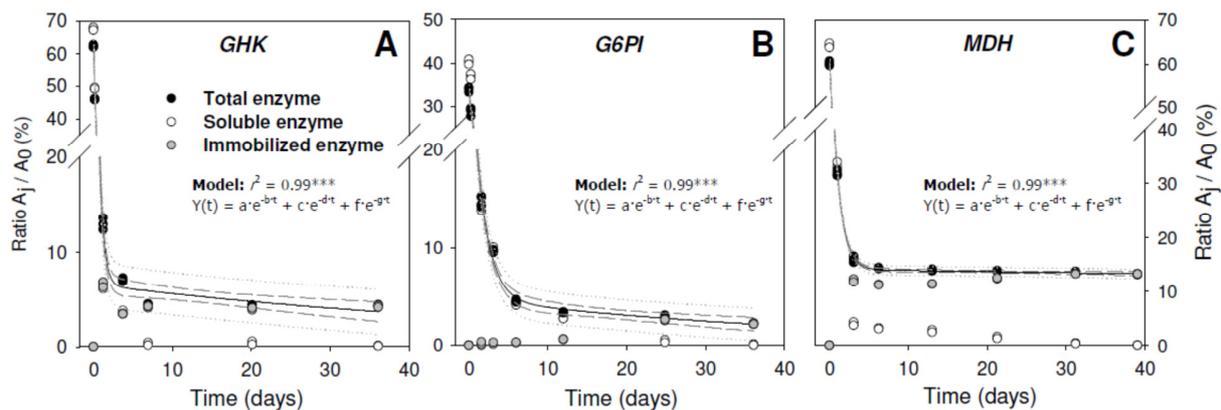


Figure 35 Cinétique de décroissance de l'activité (en % de l'activité initiale) de trois enzymes impliqués dans la respiration des organismes. Les enzymes ont été incorporées dans un sol stérilisé aux rayons γ . (A) GHK: glucose hexokinase; (B) G6PI: glucose-6-phosphate isomerase (C) MDH: malate déhydrogenase.

Lors d'une deuxième expérimentation nous avons testé si les métabolismes complexes de la respiration, se produisant dans la matrice intracellulaire structurée par la cellule, pouvaient se produire dans un contexte extracellulaire. Pour cela, des extraits de levure contenant les enzymes de la respiration (dépourvus de toute cellule) ont été additionnés soit dans un tampon stérile soit dans du sol stérile. Du glucose marqué au ¹³C a également été ajouté. Des témoins sans ajout d'extrait de levure avec du tampon ou du sol ont été préparés. L'impact des apports d'extrait de levure a été quantifié par la mesure de la production de CO₂ et de sa composition isotopique.

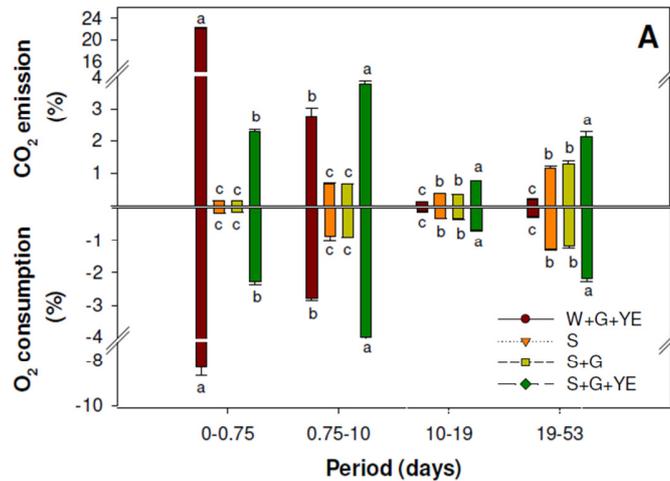


Figure 36 Production de CO₂ et consommation d'O₂ dans des microcosmes de sol ou d'eau, amendés ou non avec des extraits de levure et du glucose marqué au ¹³C, au cours de quatre périodes d'incubation. Sol irradié (S); sol irradié + glucose ¹³C (S +G); sol irradié + glucose ¹³C + extrait levure (S +G+YE); eau + glucose ¹³C + extrait levure (W +G+YE).

Dans la solution tampon ou le sol, l'apport des extraits de levure induisaient une très forte stimulation des émissions de CO₂ non marqué, provenant du sol et/ou des extraits de levure, et de CO₂ marqué provenant d'une oxydation du glucose ¹³C (Figure 36). Associée à une consommation accrue d'O₂ les émissions de CO₂ marqué et non marqué au ¹³C se maintenaient plusieurs mois après l'apport d'extrait de levure. Ces résultats confirmaient l'idée que la glycolyse et le cycle de Krebs peuvent se produire et se maintenir sans organisation cellulaire dans un liquide (tampon) ou dans un sol.

En début d'incubation, les activités de respiration induites par l'apport d'extrait de levure étaient plus élevées dans le liquide que dans le sol ce qui peut être expliqué par des problèmes de diffusion des substrats dans le sol, les effets délétères sur les enzymes de certains composés chimiques toxiques ou des interactions avec les minéraux ou des protéases. Cependant, les activités de respiration diminuaient au cours de l'incubation beaucoup plus rapidement dans le liquide que dans le sol. Au bout de 53 jours d'incubations les activités de respiration sont dix fois plus faibles dans le liquide que dans le sol. Cette stabilisation des activités respiratoires dans le sol est expliquée par la stabilisation d'une fraction des enzymes sur les particules de sol retardant leur inactivation (Figure 35). Au final, nos résultats suggèrent que les émissions de CO₂ des sols résultent de deux voies de respiration distinctes (Figure 37): (1) la respiration bien connue des êtres vivants et (2) un EXOMET générée par des catalyseurs du sol. Ces catalyseurs peuvent être des enzymes du contenu intracellulaire des organismes libérées au moment de la lyse cellulaire, et stabilisées par les complexes organominéraux du sol. Ils peuvent également être des catalyseurs minéraux (e.g. oxydes de fer)(Majcher et al., 2000; Muchowska et al., 2017) ou des formes non décrites à l'heure actuelle (e.g. hème d'enzymes intégrées dans les MOA).

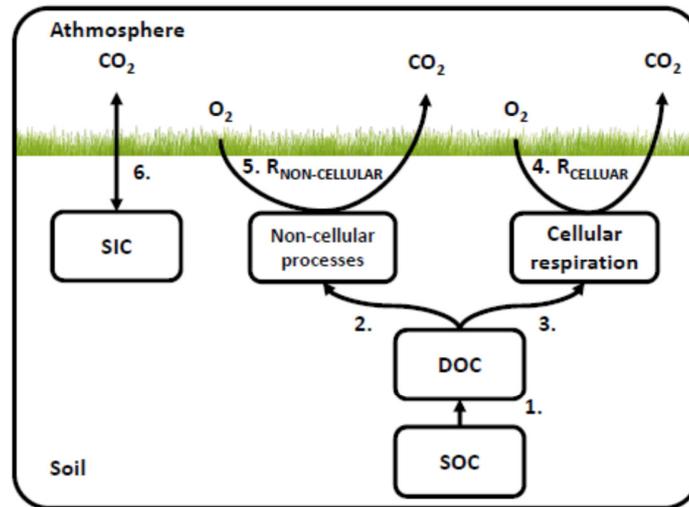


Figure 37 Les deux voies de respiration des sols : (1) la respiration des organismes vivants ($R_{cellular}$) et (2) le métabolisme oxydatif extracellulaire induit par les catalyseurs libres du sol ($R_{non-cellular}$). $R_{non-cellular}$ correspond au terme EXOMET que nous utilisons habituellement. Cet autre terme plus général a été proposé suite à une polémique avec un referee suggérant que les émissions de CO_2 des sols stérilisés peuvent être dues à « de simples décarboxylation et non à des métabolismes ».

1.2.2 Universalité de l'EXOMET dans les sols

L'universalité de l'EXOMET a été testée dans une incubation de laboratoire impliquant 26 sols prélevés le long d'un large gradient latitudinal allant du nord de l'Europe au sud de l'Afrique (Kéval et al., 2018; Maire et al., 2013b). La comparaison des activités respiratoires (consommation O_2 et production de CO_2) des sols stérilisés par rapport aux sols non stérilisés a également permis d'estimer la contribution relative de l'EXOMET et des activités respiratoires des êtres vivants du sol (microorganismes, faune du sol) en faisant l'hypothèse d'une simple additivité des voies de respiration. Les résultats montraient une présence d'EXOMET dans tous les sols irradiés testés. L'EXOMET des sols stérilisés représentaient de 12 à 50% des activités respiratoires des sols vivants, avec une moyenne de 24% pour tous les sols. Globalement les niveaux d'activités de l'EXOMET et de la respiration des organismes vivants étaient positivement corrélés. Cette corrélation peut être expliquée par i) une stimulation de l'EXOMET par les activités cellulaires telle que la production d'enzymes extracellulaire libérant des composés solubles disponibles pour l'EXOMET, ii) la libération d'enzymes intracellulaires et de co-facteurs contribuant à l'EXOMET au travers du turnover microbien et iii) la dépendance des deux voies de respiration aux mêmes facteurs du sol. Une analyse de Pearson accréditait cette dernière hypothèse puisque les deux voies de respiration répondaient globalement aux mêmes facteurs (teneur en matières organiques du sol et en carbone organique dissous). Cependant, la contribution relative de l'EXOMET aux émissions totales de CO_2 augmentait avec la teneur en carbone organique dissous des sols (Figure 34). Ce résultat suggère que les deux voies de respiration utilisent, au moins en partie, des sources de substrats différentes. (1) Les organismes du sol, en majorité des microorganismes, utilisent le large stock de matières organiques insolubles du sol pour leur respiration. Les microorganismes du sol ont accès à ce carbone insoluble grâce à leurs enzymes pariétales ou aux enzymes extracellulaires secrétées à proximité qui vont

solubiliser ce carbone. (2) L'EXOMET dépendrait des substrats solubles qui doivent diffuser entre les catalyseurs qui sont dispersés dans les pores du sol. Par conséquent, cette voie de respiration serait limitée par les processus diffusifs et la concentration des substrats solubles.

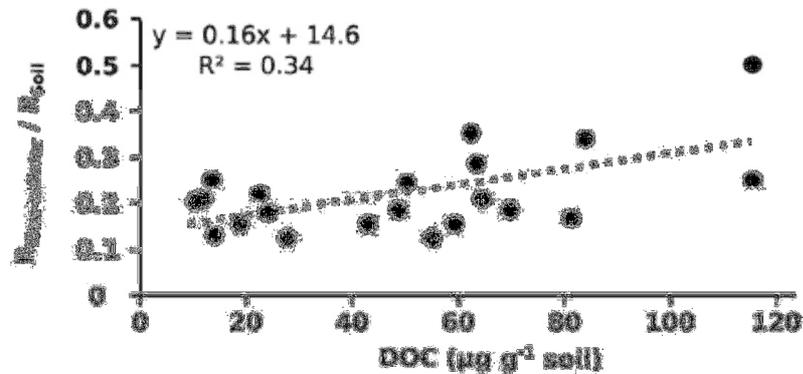


Figure 38 Contribution relative de l'EXOMET aux émissions de CO_2 d'un sol en fonction.

Au final, les résultats montrent que la contribution potentielle de l'EXOMET dans les émissions de CO_2 des sols est substantielle (24% en moyenne), en particulier dans les sols riches en carbone organique dissous où la contribution de l'EXOMET peut atteindre 50%. Les permafrosts et les sols rhizosphériques, lesquels sont riches en carbone soluble, sont très probablement des hotspots d'EXOMET.

1.2.3 EXOMET et respiration vivante : une divergence de réponses aux facteurs de l'environnement

Les connaissances sur les réactions chimiques et les catalyseurs impliqués sur l'EXOMET restent minimes. Cependant, il n'y a pas de doute sur le fait que l'EXOMET et la respiration des êtres vivants n'obéissent pas aux mêmes lois et n'ont pas les mêmes réponses aux facteurs environnementaux. Par exemple, les êtres vivants ont des contraintes physiologiques incluant des conditions environnementales spécifiques (température, humidité, absence de prédateurs ou de toxiques) et des besoins pour croître et se reproduire (énergie, nutriments). L'EXOMET n'a pas ces contraintes physiologiques mais semble dépendre plus fortement de la disponibilité en carbone soluble et des phénomènes de diffusion que les organismes vivants du sol. De plus, l'EXOMET est générée par des enzymes protégées par les particules du sol et/ou des catalyseurs minéraux très stables. Cette stabilité des catalyseurs dote l'EXOMET de propriétés spécifiques : résistance à l'autoclavage, aux hautes températures et à certains toxiques (Figure 39). Ces différences entre EXOMET et respiration des organismes signifient que la réponse des émissions de CO_2 des sols aux facteurs de l'environnement (température, humidité, etc.) ne peut être appréhendée qu'en considérant explicitement les deux voies de respiration.

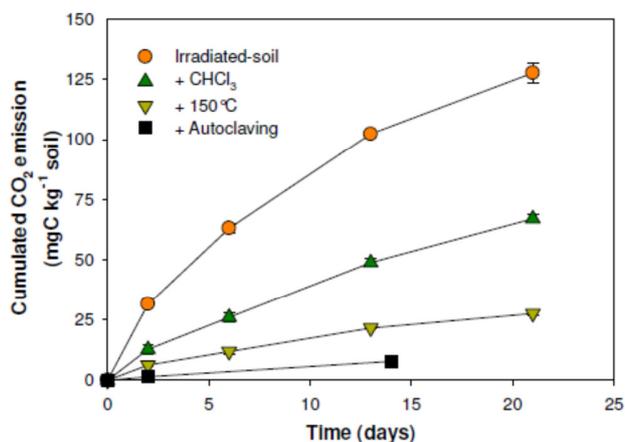


Figure 39 Persistance de l'EXOMET suite à une exposition des sols stérilisés (par irradiation) au chloroforme (CHCl₃), à 150°C pendant 10 mn et à un autoclavage.

1.2.4 Signature isotopique de l'EXOMET : une opportunité pour améliorer la quantification de l'EXOMET

La méthode de quantification de l'EXOMET repose actuellement sur la mesure des émissions de CO₂ dans un sol stérilisé. Cette approche a deux limites principales. La première est que la stérilisation libère de grandes quantités de carbone soluble et d'enzymes provenant de la biomasse microbienne tuée. Même si une approche de modélisation couplée à des expérimentations a suggéré que l'impact de la stérilisation est faible (<5%) et corrigé, l'EXOMET peut être surestimée par cette approche (Maire et al., 2013b). La deuxième limite émerge de l'hypothèse d'additivité des deux voies de respiration. Hors il est très probable que ces deux voies aient de nombreuses interactions (e.g. compétition pour l'acquisition des substrats solubles). Il est donc crucial de développer une méthode alternative de quantification de l'EXOMET. Pour cela j'ai lancé des investigations afin de tester si l'EXOMET et la respiration des organismes du sol disposaient de signatures isotopiques ¹³C différentes. Le delta ¹³C du CO₂ libéré par des microorganismes du sol et l'EXOMET (incubations de sol irradié) a été quantifié. Les résultats montraient que le delta ¹³C du CO₂ libéré par les microorganismes était similaire au delta ¹³C du substrat signifiant que la respiration cellulaire n'induisait pas ou peu de fractionnement isotopique. Au contraire, l'EXOMET induisait un fractionnement isotopique ¹³C extrêmement marqué (Figure 40). Comme souvent pour les processus de fractionnement, l'intensité du fractionnement isotopique était positivement et linéairement corrélée à la concentration en carbone soluble.

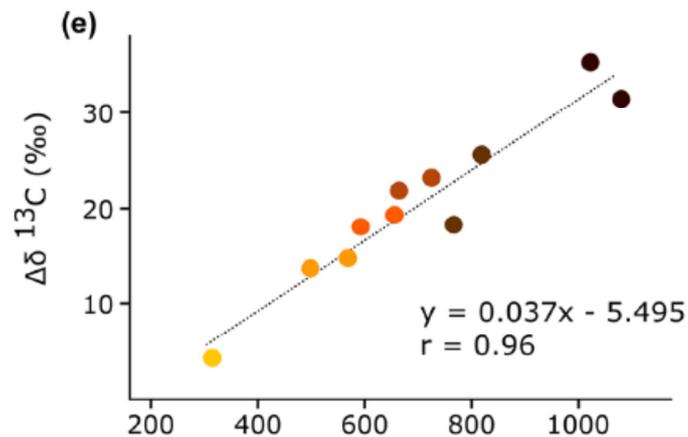


Figure 40 Fractionnement isotopique ^{13}C ($\Delta\delta^{13}\text{C}$) induit par l'EXOMET en fonction de la concentration en carbone soluble dans le sol.

Les processus à l'origine du fractionnement isotopique de l'EXOMET n'ont pas encore été identifiés mais montrent la singularité de cette voie de respiration par rapport à la respiration des organismes du sol. Ainsi, contrairement à ce qui a été proposé par une autre équipe de recherche (Blankinship et al., 2014), la respiration dans les sols stérilisés par irradiation, autoclavage ou exposition à des toxiques ne peut être expliquée par les activités d'organismes qui auraient échappés à la stérilisation. Le fractionnement isotopique indique également que l'EXOMET a une signature isotopique rendant possible sa quantification dans des sols non stérilisés tout en s'affranchissant des biais décrits ci-dessus. La méthode de quantification isotopique sera décrite dans la partie projet.

2. Modélisation : connexion de l'écologie microbienne aux flux de matière dans les écosystèmes

2.1 Introduction aux modèles actuels

Il existe une grande diversité de modèles de flux de matière dans les écosystèmes terrestres (Figure 41). Le nombre de compartiments de matière considérés est très variable (de 2 à plusieurs dizaines) ainsi que les types d'éléments (C ou N, C et N, certains incluent aussi P, S, etc) et les processus considérés (photosynthèse, respiration, minéralisation des matières organiques, etc).

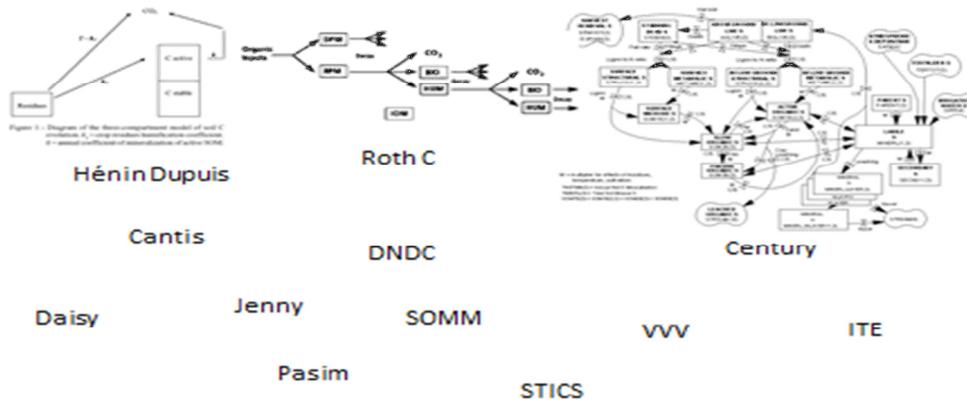


Figure 41 Diagramme de flux de trois modèles de flux de matière des écosystèmes terrestres historiquement connus (Hénin Dupuis, RothC et Century) et les noms des principaux modèles actuellement utilisés.

Cependant, la plupart de ces modèles reposent sur un pilier commun qui est l'équation mathématique décrivant la décomposition des matières organiques. Afin de comprendre cette équation, considérons un compartiment de matière organique représenté par son carbone (C). La décomposition de ce compartiment est décrite par :

$$\frac{dC}{dt} = -k \times C$$

où k est la vitesse de décomposition reflétant de nombreux facteurs dont la qualité de la matière organique. Cette équation confère des propriétés spécifiques partagées par tous les modèles actuels. Par exemple, l'intégration en fonction du temps de cette équation indique que la décomposition doit être processus continu c'est à dire qu'elle ne s'arrête jamais (Figure 42).

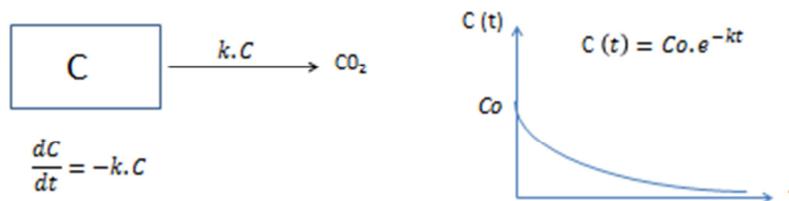


Figure 42 Diagramme de flux et équations mathématiques (dérivée ou intégrée) décrivant la décomposition d'un pool de matière organique représenté par son carbone.

Lorsqu'on incorpore cette équation dans des modèles de dynamique de matière organique qui considèrent également un flux entrant de matière organique dans le sol (φ_1), les modèles prévoient systématiquement un équilibre pour le compartiment de matière organique (Figure 43). Cela signifie que peu importe les conditions initiales et les paramètres, le compartiment va tendre vers une valeur unique. D'un point de vue biologique, cela implique une capacité finie des sols à stocker du carbone.

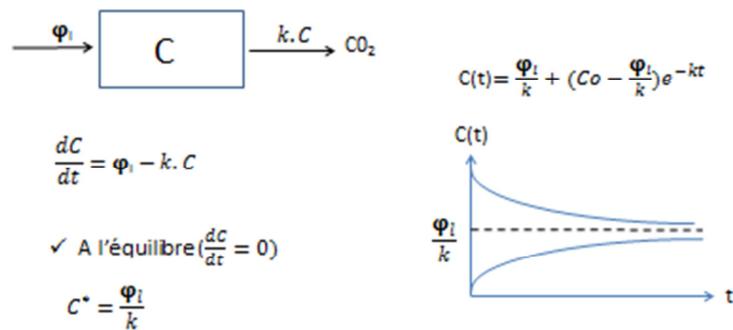


Figure 43 Diagramme de flux et équations mathématiques (dérivée ou intégrée) décrivant la dynamique d'un pool de matière organique représenté par son carbone.

Nous verrons que ces prédictions sont tout à fait discutables eu regard à nos connaissances sur la dynamique du carbone organique dans les sols. Plus directement, les travaux sur le priming effect (PE) remettent en cause l'hypothèse sous-jacente à cette équation de décomposition : le processus de décomposition serait limité par la quantité et la qualité des matières organiques et pas par les microorganismes du sol qui sont absents de l'équation. Hors les travaux sur le PE suggèrent qu'au contraire la minéralisation des matières organiques agrégées des sols (MOA) est limitée par l'activité de certains microorganismes des sols. De manière totalement indépendante, des investigations sur la distribution spatiale des microorganismes du sol à l'échelle nanométrique supportaient cette limitation microbienne en montrant que la plupart des surfaces des MOA ne sont pas colonisée par les microorganismes (Heitkötter and Marschner, 2018; Nunan et al., 2003).

2.2 Intégration de la biomasse et la diversité microbienne dans des modèles de flux de matière

Afin de comprendre quels effets sur les prédictions pourraient avoir un changement d'équation de décomposition dans les modèles, j'ai construit des modèles alternatifs de dynamique des matières organiques du sol positionnant la biomasse microbienne du sol au coeur du contrôle de la décomposition (Fontaine and Barot, 2005; Perveen et al., 2014). N'ayant que très peu d'informations disponibles sur le type de relation entre biomasse microbienne et vitesse de minéralisation des MOA, j'ai opté pour une équation linéaire entre les deux. Des années plus tard une étude menée avec une étudiante en thèse entre quantité de carbone énergétique apporté, biomasse microbienne et intensité de PE montrera que ce choix fut le bon (Perveen, 2014). La minéralisation des MOA a donc été décrite par le système d'équation suivant :

$$\frac{dC_s}{dt} = -AC_{ds},$$

$$\frac{dC_{ds}}{dt} = (A - r)C_{ds} + \Phi_i,$$

où C_s et C_{ds} représentent respectivement les compartiments des MOA et des décomposeurs, A et r l'activité de dégradation et le taux de respiration des décomposeurs, ϕ le flux de matière organique fraîche (MOF) alimentant les décomposeurs.

Les modèles devaient rester très simples afin de pouvoir les résoudre mathématiquement car je ne disposais pas d'informations assez précises sur les paramètres microbiens pour réaliser des simulations. Par conséquent, j'ai opté pour la construction de modèles de complexité croissante (Figure 44). Le modèle était complexifié uniquement lorsqu'il n'était pas capable de rendre compte d'un résultat empirique important. Une liste de résultats empiriques clés a donc été dressée afin de contraindre qualitativement les modèles. Ces résultats étaient très basiques comme pouvoir reproduire l'accumulation de matières organiques dans les sols, prendre en compte les contraintes stœchiométriques des organismes ou permettre la coexistence plantes-microorganismes.

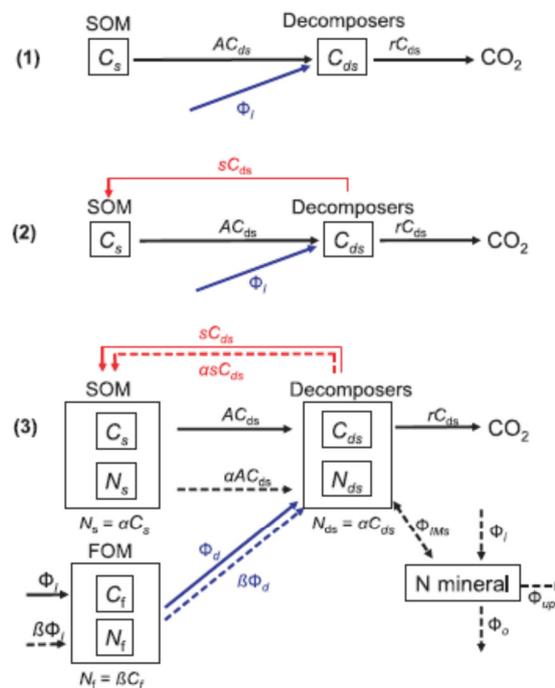


Figure 44 Diagramme de flux de trois modèles alternatifs de dynamique des matières organiques où les décomposeurs pilotent la vitesse de minéralisation des matières organiques agrégées des sols.

J'ai d'abord construit un modèle de décomposition, puis un modèle de dynamique des MOS ne considérant que le carbone (Figure 44). Dans le modèle de dynamique de MOS, une fraction de la biomasse microbienne alimente les MOA. Ce processus mime la libération de composés organiques microbiens pauvres en énergie contribuant à la formation de MOA dans les sols.

$$\frac{dC_s}{dt} = (s - A)C_{ds},$$

$$\frac{dC_{ds}}{dt} = (A - r - s)C_{ds} + \Phi_1,$$

Dans ce modèle $s+r$ représente le renouvellement des microorganismes c'est à dire la perte de carbone de la biomasse par respiration et mortalité. De ce carbone perdu, une fraction r est libérée sous forme de CO_2 tandis qu'une fraction s alimente le pool de carbone du sol (MOA).

Une version couplée carbone-azote du modèle a ensuite été construite en intégrant les contraintes stœchiométriques des organismes par la loi du minimum de Liebig (Figure 45). Cette loi du minimum se traduit pour les microorganismes par deux cas possibles : 1) ils sont limités par la quantité de carbone et ils libèrent de l'azote minéral, 2) ils sont limités par la quantité d'azote et ils immobilisent de l'azote. Dans ce dernier cas, la décomposition des matières organiques (MOF+MOA) est limitée par l'immobilisation de l'azote minéral. Le modèle de sol couplé CN a été connecté à un modèle de plante afin d'explorer le type de relations sol-plante que cela allait engendrer (Figure 45). En cohérence avec la loi du minimum, la croissance de la plante peut être limitée par 1) le carbone c'est à dire par la concentration en CO_2 et le flux de lumière au sol ou 2) l'azote minéral disponible dans le sol. L'analyse du modèle montrera que la co-existence plante-décomposeur n'est pas possible en considérant qu'un seul groupe fonctionnel microbien. Hors les avancées sur le PE montraient l'existence de deux groupes fonctionnels microbiens : un groupe responsable du PE et un autre se spécialisant dans l'utilisation du carbone frais des végétaux. Par conséquent, l'inclusion des deux groupes fonctionnels microbiens a été testée (Figure 45).

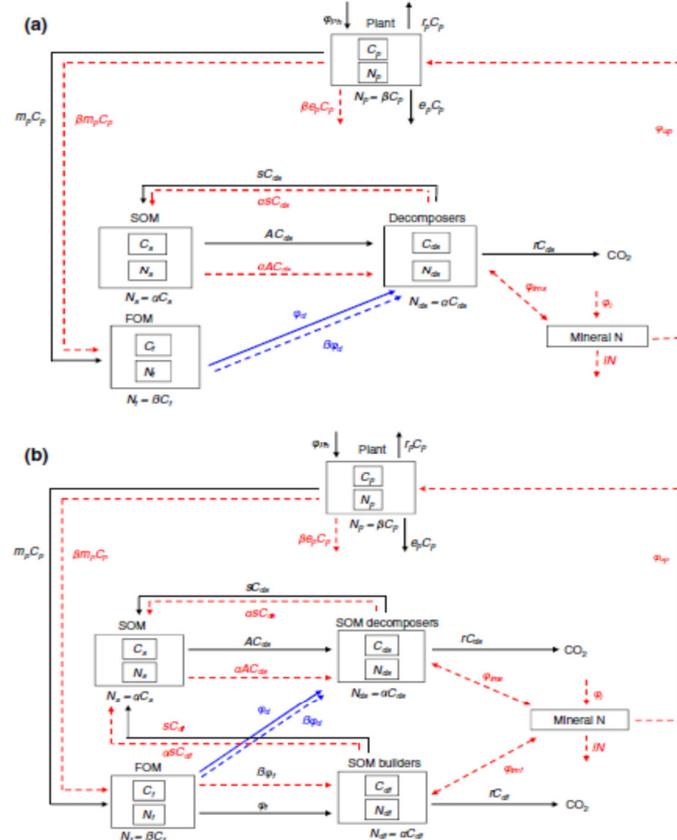


Figure 45 Modèles d'écosystèmes connectant les modèles alternatifs de dynamiques des matières organiques du sol à un modèle de plante. Le premier modèle considère qu'un seul groupe fonctionnel minéralisant les matières organiques agrégées (ici MOS) et le carbone frais (FOM) des plantes ensemble. Le deuxième modèle considère un deuxième groupe fonctionnel n'utilisant que les FOM. Ce deuxième modèle a été appelé *Symphony* en référence à sa capacité à rendre compte l'harmonie des échanges de matière entre le couvert végétal et les microorganismes du sol.

Ces modèles ont été analysés mathématiquement en calculant les solutions à l'équilibre (derivées = 0 pour tous les compartiments sauf pour les MOS qui n'ont pas d'équilibre défini dans ces modèles), les conditions de stabilité et de faisabilité proches du point d'équilibre et les conditions de basculement entre les limitations CN des organismes. Enfin, plus récemment, la version du modèle d'écosystème qui remplissait la liste des attendus (Modèle *Symphony*, Figure 45) a été entièrement paramétrée pour une prairie permanente de l'observatoire SOERE de l'UREP (Perveen et al., 2014). Cette paramétrisation s'est faite en deux étapes : une première série de paramètres microbiens ont été obtenus après ré-analyse des nombreuses incubations de laboratoire disponibles sur le PE ; d'autres paramètres ont ensuite été calculés pour la prairie permanente étudiée. Le modèle a été contraint par la mesure sur la prairie étudiée des variables suivantes : biomasse et production du couvert végétal, teneur en azote minéral du sol, stockage du carbone dans le sol, lessivage d'azote, biomasse microbienne.

2.3 Intégration du pool d'enzymes dans les modèles de réponse à la température de processus biocatalytiques.

La réponse des processus biocatalytiques à la température est globalement mal reproduite par les modèles sur le long terme (>plusieurs mois à année). C'est le cas des modèles de dynamique du carbone organique du sol. Ceux-ci prévoient une accélération du processus de minéralisation du carbone organique du sol en réaction à une élévation de la température à la surface du globe ce qui devrait conduire à une libération massive de CO₂ des sols et à une accélération du réchauffement (théorie de l'emballlement climatique). Cependant, des expérimentations grandeur nature exposant des écosystèmes à un réchauffement montrent qu'après quelques années d'émissions accrues de CO₂ provenant des sols des écosystèmes réchauffés, le système « s'acclimate » : les émissions de CO₂ ne sont plus significativement différentes entre les sols réchauffés et les sols témoins non réchauffés. Les modèles actuels représentent la réponse à la température de la minéralisation du carbone organique en utilisant une équation d'Arrhenius :

$$\frac{dC}{dt} = -k \cdot C$$

$$k = a \cdot e^{-\frac{EA}{RT}}$$

où a est la vitesse de minéralisation potentielle c'est à dire lorsque la température n'est plus limitante et EA l'énergie d'activation de la réaction. Il est possible d'observer l'effet négatif de la température sur le pool de carbone organique du sol prévue par les modèles actuels en considérant le modèle minimaliste suivant :

$$\frac{dC}{dt} = \phi - a \cdot e^{-\frac{EA}{RT}} \cdot C$$

où ϕ représente le flux de carbone rentrant dans le sol. A l'équilibre, nous obtenons :

$$C^* = \frac{\phi}{a} \cdot e^{\frac{EA}{RT}}$$

La valeur minimale du pool de carbone à l'équilibre ($C^* = \frac{\phi}{a}$) est atteinte lorsque la température tend vers l'infini. Le pool de carbone augmente continuellement avec une diminution de la température. L'effet de la température sur le pool de carbone à l'équilibre est déterminé après intégration vis à vis de la température :

$$\frac{dC^*}{dT} = -\frac{\phi}{a} \cdot \frac{EA}{RT^2} \cdot e^{\frac{EA}{RT}}$$

Nous observons ici une deuxième propriété de l'équation d'Arrhenius : l'effet négatif de la température sur le pool du carbone du sol est plus fort lorsque l'énergie de l'activation (EA) de la réaction diminue, c'est à dire que le substrat est plus récalcitrant à la dégradation. Une autre manière de mettre en relief le rôle de l'énergie d'activation de la réaction sur la réponse à la température de la minéralisation est de calculer la dérivée de k par rapport à la température en relatif à k :

$$\frac{1}{k} \cdot \frac{dk}{dT} = \frac{d(\ln k)}{dT} = \frac{EA}{RT^2}$$

Nous voyons ici que la sensibilité relative à la température augmente avec EA .

Cette équation d'Arrhenius a été proposée afin de décrire l'augmentation exponentielle des vitesses de réactions chimiques avec la température. Le souci est que les réactions biochimiques en général, et la minéralisation du carbone organique en particulier, sont catalysées par des enzymes qui ne sont pas représentées par ce modèle. Par conséquent, la vitesse de minéralisation du carbone organique dépend du pool d'enzymes secrétées par les microorganismes du sol et de leurs activités catalytiques spécifiques (activités catalytiques par unité d'enzyme), les deux pouvant avoir des réponses distinctes à la température.

Alors que le réchauffement accélère l'activité catalytique des enzymes, il pourrait avoir un effet contraire sur le pool d'enzymes. Les enzymes sont des protéines périssables qui ne s'accumulent pas indéfiniment dans le sol. Une fois secrétée par la cellule les enzymes échappent au contrôle des microorganismes et subissent de nombreuses interactions avec les minéraux, les microorganismes, les protéases... et des facteurs environnementaux plus larges comme la température. Ces interactions conduisent à une inactivation des enzymes avec perte de leur site catalytique (hème). De nombreux processus d'inactivation existent mais un est particulièrement important à prendre en compte pour comprendre l'effet de la température sur les activités enzymatiques : l'inactivation thermique des enzymes. Cette inactivation thermique découle des mouvements browniens et des chocs entre molécules qui vont provoquer une perte de la structure tridimensionnelle des enzymes nécessaire à leur activité.

Avec mon collègue Gaël Alvarez, j'ai revisité l'effet de la température sur les processus biocatalytiques (Alvarez et al., 2018a) dans des modèles où les vitesses de réactions dépendent de l'activité catalytique des enzymes mais aussi du pool d'enzymes. Le pool d'enzymes était simulé en considérant 1) la production microbienne d'enzymes et 2) l'inactivation thermique des enzymes. La théorie a considéré des modèles en batch et des modèles de réacteur en flux continu. L'objet de cette synthèse n'est pas de retranscrire l'ensemble mais d'en retirer les grandes idées.

Considérons un pool d'enzymes secrété par des microorganismes, la dynamique de ce pool et de l'activité de catalyse peuvent être décrites par les équations :

$$\frac{dE_{act}}{dt} = -k_{inact} \cdot E_{act}(t)$$

$$\frac{dC_s}{dt} = V_{max}(t) = k_{cat} \cdot E_{act}(t)$$

où E_{act} représente le pool d'enzymes, k_{cat} l'activité catalytique spécifique des enzymes et k_{inact} leur taux d'inactivation thermique. Les deux termes k_{cat} et k_{inact} sont décrits par des équations de type Arrhenius :

$$k_{inact} = a_j \cdot e^{\frac{-E_{inact}}{RT}}$$

$$k_{cat} = a_c \cdot e^{\frac{-E_{Acat}}{R.T}}$$

La dynamique du pool d'enzymes et de son activité catalytique peut être obtenue en intégrant les équations différentielles dans le temps. On obtient donc :

$$E_{act}(t) = E_0 \cdot e^{-k_{inact} \cdot t}$$

$$\frac{dC_s}{dt} = V_{max}(t) = k_{cat} \cdot E_0 \cdot e^{-k_{inact} \cdot t}$$

Après remplacement de k_{inact} par son équation, on obtient l'équation décrivant la vitesse instantanée des activités catalytiques du pool d'enzymes au cours du temps :

$$V_{max}(T, t) = a_c \cdot e^{\frac{-E_{Acat}}{R.T}} \cdot E_0 \cdot e^{-t \cdot \left(a_i \cdot e^{\frac{-E_{Ainact}}{R.T}} \right)}$$

Cette équation est fréquemment utilisée en enzymologie pour décrire les vitesses de réaction d'un pool d'enzymes en fonction de la température et du temps. A court terme (quelques minutes-heures), cette équation et les essais enzymatiques court terme montrent une courbe de réponse en cloche de l'activité enzymatique à la température avec un sommet correspondant à la « température optimale » de l'enzyme ou du processus biocatalytique considéré. Nous démontrerons que ce concept de température optimale est erroné car les enzymes n'ont pas d'optimum de température et la réponse des processus biocatalytiques à la température nécessite d'imaginer un autre concept. Dans la nature, les enzymes libérées par les microorganismes agissent jusqu'à leur complète inactivation. En conséquence, afin de déterminer l'effet d'un pool d'enzymes sur la quantité totale de carbone organique du sol dégradé, il est nécessaire de considérer le cumul des activités enzymatiques au cours du temps. Ce cumul, appelé rendement de réaction (RY), est obtenu en intégrant V_{max} au cours du temps :

$$RY(T, t) = \int_0^t V_{max}(t) \cdot dt = \frac{a_c}{a_i} \cdot e^{\frac{E_{Ainact} - E_{Acat}}{RT}} \cdot E_0 \cdot \left(1 - e^{-t \cdot a_i \cdot e^{\frac{-E_{Ainact}}{RT}}} \right)$$

La quantité totale de carbone organique dégradé par le pool d'enzymes, le rendement total de la réaction (RY_{∞}), est donnée par :

$$RY_{\infty} = E_0 \cdot \frac{a_c}{a_i} \cdot e^{\frac{E_{Ainact} - E_{Acat}}{RT}}$$

Par conséquent, pour chaque unité d'enzymes initialement secrétée par les microorganismes (E_0), une quantité finie de carbone organique sera dégradée. Nous avons donné à cette valeur le nom de pouvoir catalytique des enzymes (E_{power}) caractérisé par l'équation suivante :

$$E_{power} = \frac{a_c}{a_i} \cdot e^{\frac{E_{Ainact} - E_{Acat}}{RT}}$$

Le rendement de la réaction (RY) et le E_{power} sont véritablement les variables à considérer pour comprendre l'effet de la température sur les réactions biocatalytiques et les organismes biologiques. Ces variables ont été étudiées dans des modèles intégrant la production d'enzymes microbiennes renouvelant le pool d'enzymes actives, analysés à l'équilibre (dérivées par rapport au temps nulles) et en dynamique afin de simuler le changement du niveau des activités enzymatiques suite à un réchauffement. Une analyse de la littérature et des essais enzymatiques ont également été effectués afin de déterminer les propriétés thermodynamiques des enzymes (a_o , a_v , EA_{inact} , EA_{cat}).

3. Nouvelles prédictions des modèles et tests expérimentaux

3.1 L'origine de la stabilité du carbone organique dans les horizons profonds

L'analyse à l'équilibre du modèle de minéralisation des matières organiques agrégées du sol (Fontaine and Barot, 2005) intégrant le contrôle microbien est simple et pédagogique méritant d'être donc présentée (Figure 46).

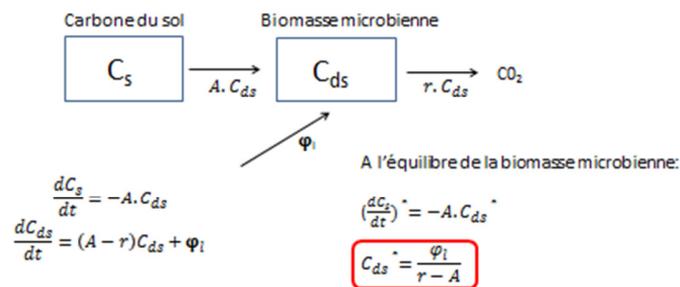


Figure 46 Analyse à l'équilibre du modèle de décomposition incluant la limitation microbienne.

L'analyse montre que la survie des microorganismes du sol dépend de l'entrée de carbone frais riche en énergie (φ_i) déposé par les plantes dont le compartiment n'est pas représenté ici. Afin de comprendre pourquoi, il est nécessaire d'analyser la condition pour que le compartiment microbien soit bien positif : $r > A$. Biologiquement cela signifie que la biomasse des microorganismes atteint un équilibre uniquement si les pertes de carbone par mortalité et respiration soient supérieures au gain de carbone obtenu par la solubilisation du carbone du sol. Si cette condition n'est pas respectée, alors la biomasse des microorganismes augmente continuellement ($\frac{dC_{ds}}{dt} > 0$) ce qui ne se produit pas dans les sols. Par conséquent, la décomposition du carbone organique du sol n'est pas une source d'énergie suffisante pour les microorganismes du sol. Ainsi, en l'absence de carbone frais déposé par les plantes, la décomposition des matières organiques du sol pourrait s'arrêter.

Afin de tester cette prédiction, j'ai cherché une situation où des matières organiques du sol pourraient être stockées mais les dépôts de carbone frais seraient absents. J'ai trouvé la situation des matières organiques enfouies dans les horizons profonds de sol (>40 cm de profondeur). Ces matières organiques sont stockées depuis plusieurs centaines voire milliers d'années dans les horizons profonds où la densité

racinaire et les apports de carbone frais sont très faibles comparé à l'horizon de surface (Balesdent et al., 2018). Si la prévision du modèle est juste, l'incorporation de carbone frais dans un sol profond devrait réactiver les activités microbiennes et la minéralisation de ce carbone ancien. Cette hypothèse a été testée dans une incubation de laboratoire où du sol profond prélevé dans le SOERE de l'INRA de Clermont Ferrand a été exposé à un apport de cellulose. Afin de prouver la réactivation de la minéralisation d'un carbone du sol ancien, j'ai développé une méthode basée sur un double marquage (^{13}C et ^{14}C) de la cellulose et des équations de dilution isotopique. Cette méthode a permis de séparer les deux origines du CO_2 (carbone du sol et cellulose) et de dater au ^{14}C le carbone provenant du sol. Les résultats ont confirmé la prédiction du modèle : l'apport de cellulose a réactivé la minéralisation d'un carbone organique présent dans le sol depuis plus de 2500 ans (Table 2). La minéralisation s'était maintenue pendant quelques mois avant s'arrêter à nouveau du fait de l'épuisement de la cellulose.

	Quantity (mg C kg ⁻¹)	^{14}C activity (MC%)	^{14}C age (yrBP)
Control soil	100 ± 4	97 ± 1.4	222 (+119/-117)
Soil with cellulose	172 ± 3	85 ± 1.6	1,329 (+154/-152)
Priming effect	72 ± 2	73 ± 2	2,567 (+226/-219)

Table 2 Quantité, activité ^{14}C et âge du carbone provenant des matières agrégées du sol qui a été libéré par les microorganismes au cours d'une incubation de sols avec ou sans ajout de cellulose marquée au ^{13}C et ^{14}C .

Ces résultats montrent comment l'utilisation des mathématiques, même dans des équations très simples, permet de réaliser des progrès importants dans la compréhension des processus biogéochimiques. Ils ont révélé l'origine de la persistance du carbone organique dans les horizons profonds et ont permis à la communauté scientifique de prendre conscience qu'aucune forme de carbone n'est inerte ni récalcitrante à la décomposition microbienne (Guenet et al., 2012; Schmidt et al., 2011). Ainsi le concept de récalcitrance est petit à petit abandonné par la communauté scientifique qui lui préfère le terme de persistance. Cette persistance n'est pas seulement une propriété inhérente aux molécules carbonées mais aussi d'un état, par exemple, ici l'absence de carbone frais pour les microorganismes. Plus pratiquement, mes résultats suggéraient que la pénétration des horizons profonds par des racines en réponse à des changements de pratiques et au réchauffement climatique (labour profond, utilisation de variétés avec un système racinaire profond) pourrait réactiver une minéralisation microbienne conduisant à des pertes de matières organiques anciennes. Cela a été démontré plus tard par une expérimentation mise en place avec un étudiant en thèse (Shahzad et al., 2018). Des investigations complémentaires ont également permis de montrer que la persistance du carbone profond avait une double origine : l'absence de carbone frais et une préservation des perturbations physiques de surface (précipitations, racines...).

3.2 Accumulation continue des MOS dans les écosystèmes

Une deuxième prédiction émergeant de ces nouveaux modèles est que le compartiment du carbone organique du sol n'atteint pas forcément d'équilibre et peut s'accumuler sans limite (Fontaine and Barot, 2005; Perveen et al., 2014). Dans les modèles classiques où la décomposition est limitée par la teneur en

carbone du sol, l'accumulation du carbone organique du sol s'accompagne d'une augmentation progressive du flux de minéralisation jusqu'à ce que la sortie de carbone compense l'entrée, signifiant que le compartiment de carbone a atteint son équilibre. Une fois l'équation de décomposition libérée de l'influence de la teneur en carbone présente dans le sol (car l'activité des microorganismes serait le facteur limitant), le carbone du sol peut prendre n'importe quelle valeur (Figure 47).

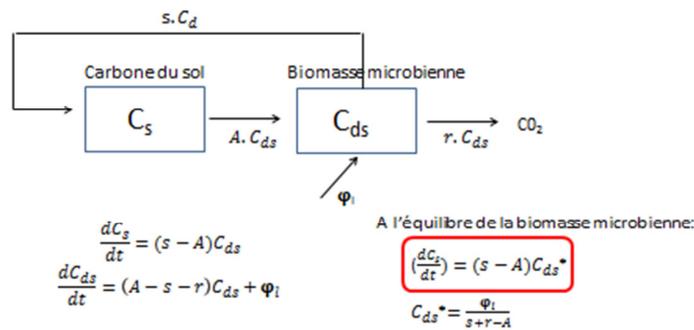


Figure 47 Analyse à l'équilibre du modèle de dynamique du carbone organique du sol incluant la limitation microbienne.

L'accumulation ou la perte de carbone organique du sol va dépendre uniquement des paramètres microbiens de stockage ou, au contraire, de minéralisation des MOA (s et A). Cette prédiction va permettre de jeter un nouveau regard sur la dynamique de carbone dans les écosystèmes. Plusieurs chercheurs vont commencer à publier des résultats empiriques supportant l'idée d'une accumulation de carbone dans les sols sans limite observable. Par exemple, il sera démontré que les forêts primaires ou très anciennes et les prairies permanentes accumulent encore du carbone dans les sols alors qu'elles auraient dues atteindre un équilibre (Chen et al., 2018; Guan et al., 2015; Luysaert et al., 2008; Yu et al., 2013). Je vais moi-même montrer que la forêt primaire guyanaise ainsi que des prairies anciennes issues de la déforestation de cette forêt primaire accumulent toujours du carbone organique (Table 3).

	Eddy covariance (tC ha ⁻¹ yr ⁻¹)	Chronosequence study (tC ha ⁻¹ yr ⁻¹)
Native forest	-3.31 ± 0.44 a	No data
Pasture ≤24 years	-0.31 ± 0.48 b	1.03 ± 0.85 ns
Pasture ≥24 years	-1.27 ± 0.37 ab	-5.31 ± 2.08*

Table 3 Stockage de carbone dans la forêt primaire et les prairies anciennes (>24 ans) de la Guyane. Par convention avec la communauté scientifique sur l'atmosphère la fixation de carbone dans les écosystèmes est représentée par des valeurs négatives.

Cette accumulation se produit dans les horizons profonds de sol (< 20 cm de profondeur) qui sont généralement délaissés dans les études sur la dynamique du carbone du sol expliquant sans doute pourquoi cette connaissance n'a pas été découverte avant (Figure 48). Cette hypothèse d'une accumulation continue des matières organiques dans les sols est ardemment débattue avec les tenants de l'hypothèse d'une capacité finie des sols à stocker des matières organiques (Fontaine et al., 2018;

Reichstein et al., 2009; Smith, 2014). Cette capacité finie serait expliquée par une capacité limitée des minéraux du sol à adsorber et protéger les matières organiques de l'oxydation microbienne (Hassink and Whitmore, 1997). Cependant, cette école de pensée ne prend pas en compte l'accumulation des matières organiques libres des minéraux du sol (Fontaine et al., 2007; Mendez-Millan et al., 2014), en particulier dans les horizons profonds où les activités microbiennes sont bloquées par limitation énergétique. Elle ne prend pas non plus en compte les grandes quantités de minéraux aux surfaces libres contenues dans les horizons profonds.

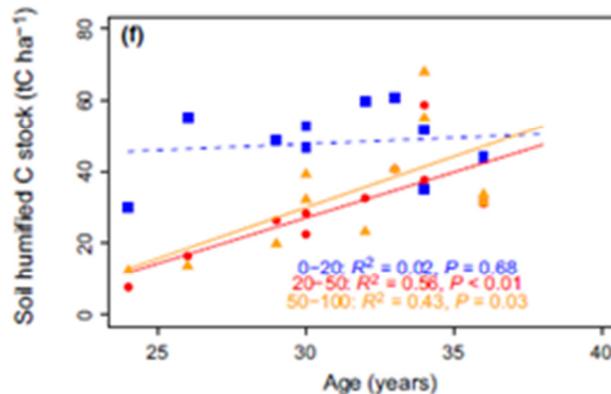


Figure 48 Accumulation de carbone organique dans les horizons profonds (0.2-1 m) des prairies anciennes de la Guyane.

3.3 Le mécanisme de banque

3.3.1 Paradoxe de la synchronisation offre-demande en nutriments

L'analyse des modèles couplés carbone-azote et plante-microorganismes (Fontaine and Barot, 2005; Perveen et al., 2014) est bien trop compliquée pour être présentée dans cette synthèse. Par conséquent, je vais résumer les principaux résultats en utilisant des figures conceptuelles afin d'illustrer mes propos. Un résultat majeur est sans doute d'avoir pointé les conditions complexes d'une persistance des plantes et des microorganismes du point de vue trophique. L'accumulation des matières organiques agrégées du sol (MOA) implique une séquestration continue de nutriments car les MOA sont construites de carbone et de nutriments dans des proportions proches de ceux des microorganismes. En analysant les modèles, je me suis rendu compte que, dans un environnement séquestrant des nutriments, les conditions de survie des plantes sont minces ce qui contraste avec l'évidence même d'une coexistence plantes-microorganismes dans la plupart des écosystèmes.

Cependant, les MOA ne sont pas vouées qu'à s'accumuler, elles servent aussi, à certains moments, de source essentielle de nutriments pour les végétaux une fois le travail de minéralisation des microorganismes effectué. Cette minéralisation des MOA contribue à ce que nous avons appelé « l'offre du sol ». L'analyse des modèles a montré que cette offre doit se synchroniser au « besoin des plantes » dans les écosystèmes, c'est une condition de leur pérennité. En effet, tout excès d'offre conduit à des pertes par lessivage et dénitrification conduisant à un appauvrissement des sols et à la

non-durabilité de l'écosystème. Une offre insuffisante bloquera le développement des plantes. Hors cette synchronisation offre-besoin dans les écosystèmes a très peu de chance de se produire de manière spontanée car les plantes et les décomposeurs du sol sont des organismes régis par des lois de réponse aux facteurs de l'environnement distinctes (Figure 49).

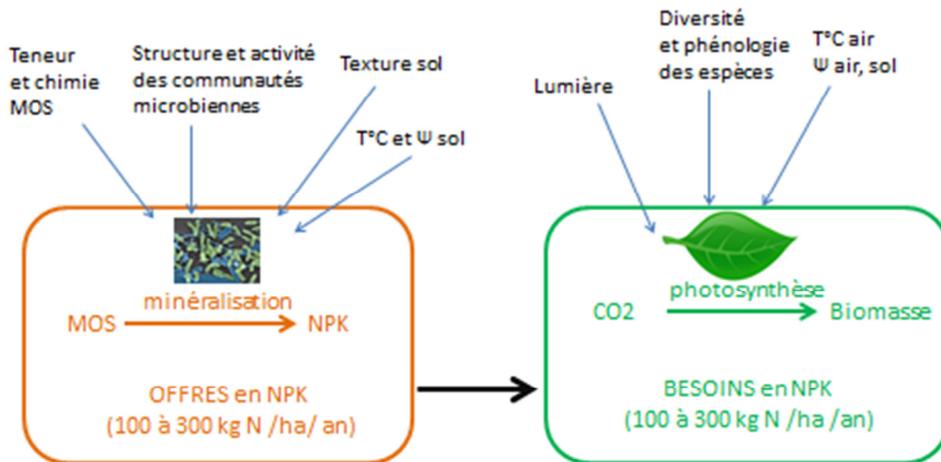


Figure 49 Paradoxe de la synchronisation entre l'offre en nutriments minéraux du sol et les besoins des plantes, condition de persistance des écosystèmes. Les activités microbiennes sont en premier lieu dépendantes de la quantité et la chimie des organiques présentes dans le sol. Ces activités sont ensuite modulées par d'autres facteurs comme le potentiel hydrique, la température et la texture du sol. Les activités végétales dépendent de la lumière et des espèces présentes. Certains facteurs de contrôle sont communs aux deux organismes (température et potentiel hydrique), mais les types de réponse sont différentes.

3.3.2 Un tapis roulant de nutriments solubles

Ces investigations sur les conditions de persistance des écosystèmes indiquaient l'existence très probable de mécanismes de régulation ajustant l'offre en nutriments des microorganismes aux besoins des plantes. Un autre résultat clé délivré par les modèles sera de montrer qu'il est impossible de représenter un mécanisme de régulation en considérant un groupe fonctionnel microbien (minéralisant les MOA *via* le priming). Hors nos travaux sur le priming avaient identifié l'existence d'un deuxième groupe fonctionnel microbien décomposant uniquement les matières organiques fraîches des plantes. L'inclusion de ce deuxième groupe fonctionnel dans le modèle va faire apparaître un mécanisme complexe de régulations des échanges de matière entre les plantes et les microorganismes, appelé mécanisme de banque, assurant la durabilité de l'écosystème dans de nombreuses conditions.

Dans ce mécanisme de banque, les deux groupes fonctionnels microbiens ont des fonctions opposées. Un groupe microbien, nommé M, va minéraliser les MOA et libérer des nutriments minéraux tandis que l'autre groupe, nommé I, va construire des MOA en immobilisant des nutriments minéraux. Le fonctionnement simultané des deux groupes microbiens va créer un flux continu de nutriments minéraux (tapis roulant) entre les microbes M et I et un renouvellement des MOA (Figure 50). La plante quant à elle s'alimente sur ce tapis roulant de nutriments afin de satisfaire ses besoins nutritionnels.

Ainsi le modèle propose une représentation écologique des flux de minéralisation et d'immobilisation d'azote observée dans les sols (Mary et al., 1998; Murphy et al., 2003), flux traditionnellement appelés MIT pour mineralisation-immobilization turnover. Le modèle affecte également un sens écologique très fort à ces flux puisqu'ils conditionnent la persistance des plantes, spécialement dans des milieux où les entrées en nutriments sont faibles.

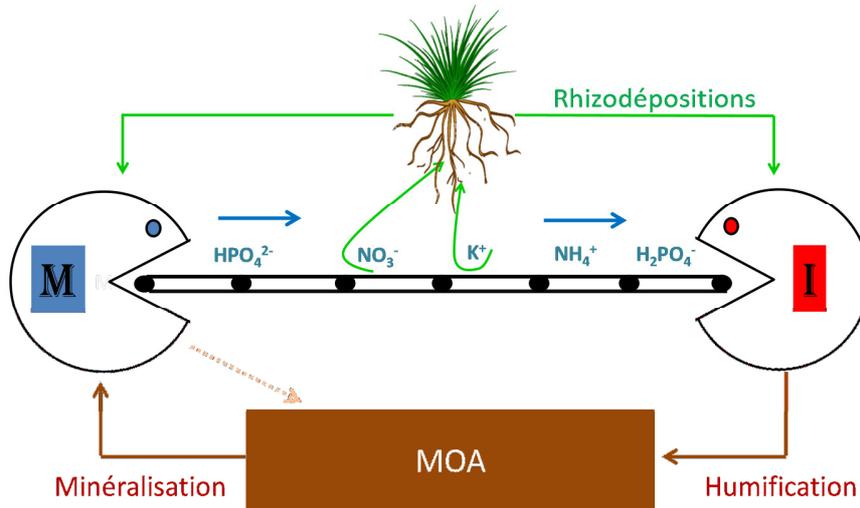


Figure 50 Tapis roulant de nutriments minéraux créé par les activités de deux groupes microbiens aux fonctions opposées. Groupe M : les minéralisateurs des matières organiques agrégées des sols libérant des nutriments minéraux ; Groupe I : les constructeurs des matières organiques des sols immobilisant des nutriments minéraux. Ces deux groupes microbiens I et M correspondent respectivement aux groupes r et K contrôlant pour le priming effect. Cependant, ces deux groupes ont été renommés dans le cadre de cette étude afin de mieux représenter leurs fonctions respectives. Les rhizodépositions alimentent en énergie les microorganismes M (Shahzad et al., 2015) et I (Nguyen et al., 2008)

Le mécanisme de banque va conduire à un ajustement du tapis roulant de nutriments (MIT) et du compartiment de matières organiques du sol aux besoins de la plante (Figure 51). Cette ajustement est une propriété émergente de l'interaction des trois partenaires (plante, microbes M et I). Lorsque les besoins en nutriments de la plante sont forts (conditions de lumière et d'eau optimales pour la photosynthèse ; e.g. printemps), le prélèvement accru de nutriments par la plante va inhiber les microorganismes I (limités par les nutriments) au profit des microorganismes M. Il en résulte une intensification de la minéralisation des MOA et de la libération de nutriments minéraux. Au contraire, lorsque le prélèvement en nutriments des plantes diminuent (e.g. fin d'automne), l'accumulation de nutriments minéraux stimule les microorganismes I et inhibe les microorganismes M. Dans ce cas, le mécanisme de banque est dans un régime de stockage de nutriments dans les MOA. Ainsi le mécanisme ajuste continuellement l'offre du sol aux besoins des plantes qui évoluent au cours du temps en fonction des cycles végétatifs des espèces et de la fluctuation des facteurs environnementaux. Cet ajustement de l'offre du sol assure à la fois la nutrition minérale de la plante et la conservation des nutriments dans l'écosystème sous forme de MOS

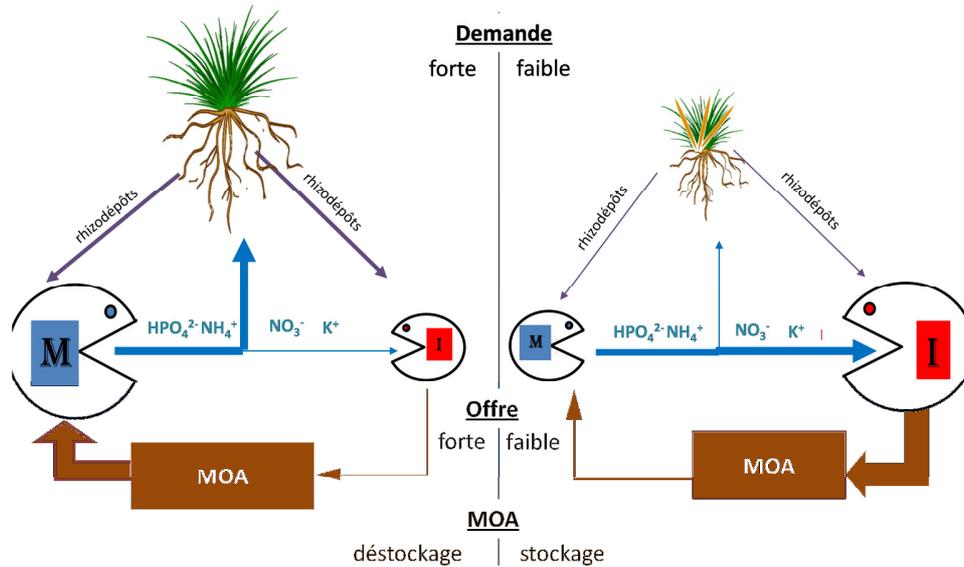


Figure 51 Mécanismes de banque ajustement l'offre en nutriments du sol aux besoins des plantes.

3.3.3 Série de tests expérimentaux du mécanisme de banque

Le mécanisme de banque étant une propriété émergente d'un système, son test expérimental est complexe et ne peut être réduit à l'approche « test d'hypothèse pouvant être rejetée ou non ». Par contre, il est possible de tester la vraisemblance du système modélisé en confrontant les principales prédictions du modèle à des mesures du système. Pour cela une série d'expérimentations a été mise en place afin d'étudier le fonctionnement global de systèmes sol-plante exposés à différents traitements dans le but de révéler le mécanisme de banque. Ces expérimentations ont nécessité d'imaginer et construire une plateforme expérimentale permettant le suivi simultané des activités végétales et microbiennes dans 40 mésocosmes (Figure 52).



Figure 52 Photographie de la plateforme expérimentale mis en place à l'INRA de Clermont Ferrand afin d'étudier les interactions plantes-microorganismes, et en particulier le mécanisme de banque.

Les défis scientifiques et techniques relevés par cette plateforme ont fait l'objet d'une publication dédiée (Cros et al., 2019). Brièvement, cette plateforme permet de mesurer en continu les activités photosynthétiques des végétaux et donc d'estimer leurs besoins en nutriments (Figure 53).

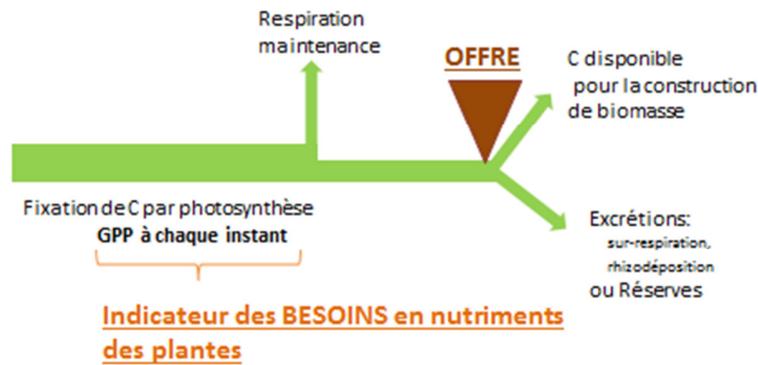


Figure 53 La mesure de la photosynthèse brute (GPP) permet d'estimer le potentiel de croissance et donc les besoins en nutriments des végétaux. En fonction de l'offre en nutriments du sol ce potentiel pourra se réaliser ou pas. Dans ce dernier cas, l'excès de carbone est respiré ou exsudé dans la rhizosphère.

Cette plateforme permet également un marquage en continu des plantes au ^{13}C . Ainsi la minéralisation microbienne des MOA peut être quantifiée par l'analyse du CO_2 émis par l'écosystème et sa composition isotopique ^{13}C . Cette minéralisation des MOA est la première composante de l'offre du sol en nutriments (Figure 54).

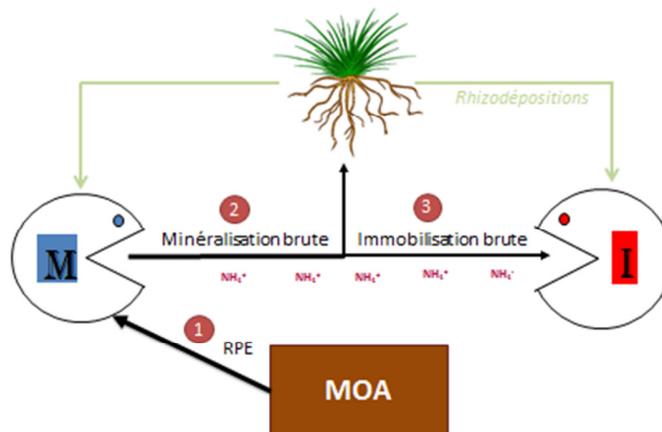


Figure 54 Caractérisation de l'offre du sol par la mesure de (1) la minéralisation des matières organiques agrégées du sol et du rhizosphère priming effect (RPE) induit par les plantes, et des flux bruts de minéralisation (2) et d'immobilisation (3) d'azote du sol.

La deuxième composante est déterminée par l'équilibre entre les groupes microbiens I et M qui créent le tapis roulant de nutriments solubles. Cet équilibre a été quantifié par la mesure de la différence des flux bruts de minéralisation (activité du groupe microbien M) et d'immobilisation (activité du groupe microbien I) de l'azote par la technique de dilution ^{15}N (Figure 54)(Murphy et al., 2003). Selon

l'hypothèse du mécanisme de banque, cette différence (appelée delta MI) détermine l'offre du sol et devrait augmenter avec l'intensité de la photosynthèse des couverts.

Le mécanisme de banque a été étudié sur plusieurs dizaines d'espèces de graminées et légumineuses communes des prairies permanentes des milieux tempérés. Il a également été étudié sur trois modèles d'agrosystèmes : une prairie (P), un blé pur (BLE) et un nouveau système de culture (NSC) où du blé a été implanté dans la prairie. L'hypothèse était que le mécanisme de banque existe uniquement en présence de plantes pérennes c'est à dire dans la P et le NSC. En effet, l'analyse des modèles mathématiques avait suggéré que le mécanisme de banque dépend d'une alimentation continue et importante des microorganismes par le carbone frais des plantes (rhizodépôts). Cette alimentation est possible en présence de plantes pérennes (P et NSC) alors que le blé pur ne pourra alimenter les microorganismes en carbone frais que quelques mois dans l'année (Attard et al., 2016).

3.3.3.a Lien entre photosynthèse et minéralisation microbienne des matières organiques du sol

En présence de plantes pérennes, les résultats montraient une relation positive linéaire entre le rhizosphère priming effect (RPE ; minéralisation des MOA stimulées par les racines) et l'activité photosynthétique des plantes (Figure 55)(Cros, 2019). Cette relation supporte l'idée d'un ajustement de l'offre en nutriments au besoin des plantes.

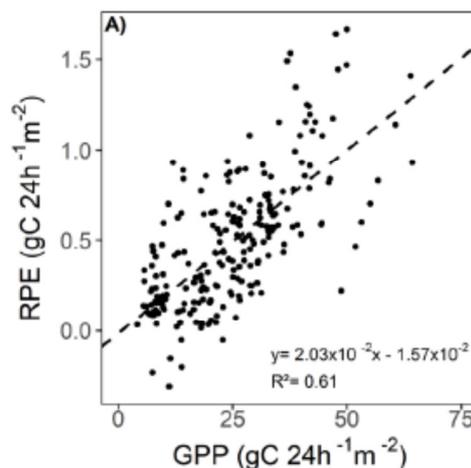


Figure 55 Relation entre le rhizosphère priming effect (RPE) et la photosynthèse brute des plantes (GPP).

Cependant, deux processus peuvent être corrélés sans pour autant avoir de liens de cause à effet. Afin de démontrer l'ajustement de l'offre au besoin, une expérimentation a mesuré le RPE avant et après coupe d'une partie de la biomasse aérienne de six plantes pérennes. Instantanément, la coupe diminuait drastiquement la surface foliaire, la photosynthèse et donc les besoins en nutriments des plantes. En réponse, le RPE diminuait de 20 à 50% selon les espèces dans le mois suivant la coupe (Figure 56)(Shahzad et al., 2012a). Une investigation temporelle plus précise sur une espèce de plante montrait une diminution du RPE intervenant dans les 48h suivant la coupe.

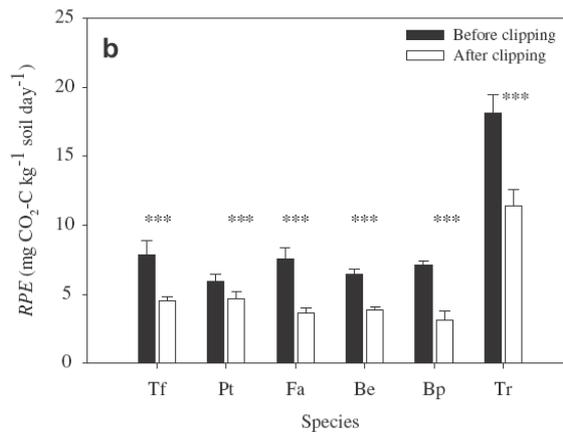


Figure 56 Rhizosphère priming effect (RPE) induit par cinq espèces de graminées et une espèce de légumineuse avant et après coupe d'une partie de la biomasse aérienne. Ces mesures ont été effectuées un mois après la coupe. Tf *Trisetum flavescens*, Pt *Poa trivialis*, Fa *Festuca arundinacea*, Be *Bromus erectus*, Bp *Brachypodium pinnatum*, Tr *Trifolium repens*.

Ces résultats suggèrent l'existence d'une connexion quasiment en ligne de l'offre microbienne de nutriments à la demande de la plante chez de nombreuses espèces pérennes.

3.3.3.b Lien entre photosynthèse et delta minéralisation-immobilisation sous différents couverts

L'effet d'une variation des besoins des plantes sur l'offre du sol caractérisée par la mesure des flux bruts de minéralisation et d'immobilisation de l'N (Figure 54) a fait l'objet d'une étude comparant trois modèles d'agrosystèmes (P prairie, BLE blé pur et NSC blé dans la prairie). Dans cette étude, la variation de la demande en nutriments des plantes était générée par l'évolution de la photosynthèse au cours des saisons et en réponse aux récoltes de végétaux (fauches ou moissons). Les flux de minéralisation et d'immobilisation de l'azote étaient mesurés dans des incubations de laboratoire après récolte du sol (Murphy et al., 2003) signifiant qu'ils correspondaient à des flux potentiels. De plus, l'apport d'azote minéral marqué ¹⁵N nécessaire à la mesure contribuait à surestimer le flux d'immobilisation signifiant que le delta MI était systématiquement négatif. Cependant, ces flux potentiels étaient de bons indicateurs de l'importance relative des activités des groupes microbiens I et M dans les différents traitements: un faible delta MI indiquait un tapis roulant favorisant l'immobilisation dans les matières organiques du sol tandis qu'un fort delta MI indiquait un tapis roulant favorisant la mise à disposition d'azote pour les couverts végétaux.

Les résultats (Figure 57) montraient une augmentation du delta MI avec la photosynthèse brute des couverts dans le cas de la P et du NSC. Cette relation positive entre delta MI et photosynthèse supporte l'idée d'un ajustement du tapis roulant de nutriments minéraux à une demande en azote des couverts évoluant au cours de l'année. De plus, l'absence de variation du delta MI (valeur toujours élevée) avec la photosynthèse dans le cas du BLE (Figure 57) confirmait notre hypothèse sur le rôle clé des plantes pérennes dans le maintien du mécanisme de banque tout au long de l'année. La photosynthèse et donc l'alimentation des microorganismes par les rhizodépôts se concentraient sur 4 mois dans le cas du BLE (Figure 58). Pendant cette période de forte demande en azote, le blé favorisait la

construction de microorganismes M. En dehors de cette période, plus aucune plante n'était présente pour alimenter la construction des microorganismes I ce qui expliquait la persistance d'un delta MI élevé.

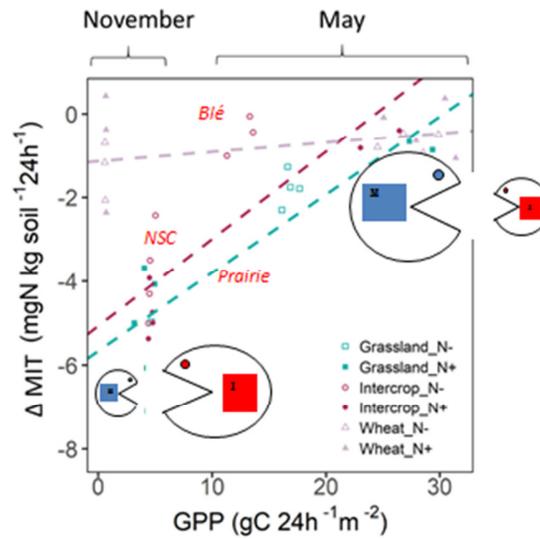


Figure 57 Relation entre le delta immobilisation-minéralisation (ΔMIT) et la photosynthèse brute des plantes (GPP).

Dans le cas de P et NSC, la photosynthèse et les rhizodepositions associées se maintenaient tout au long de l'année y compris en hiver grâce aux plantes pérennes (Figure 58). Ainsi les successions microbiennes assurant la synchronisation offre/demande au cours de l'année pouvaient avoir lieu.

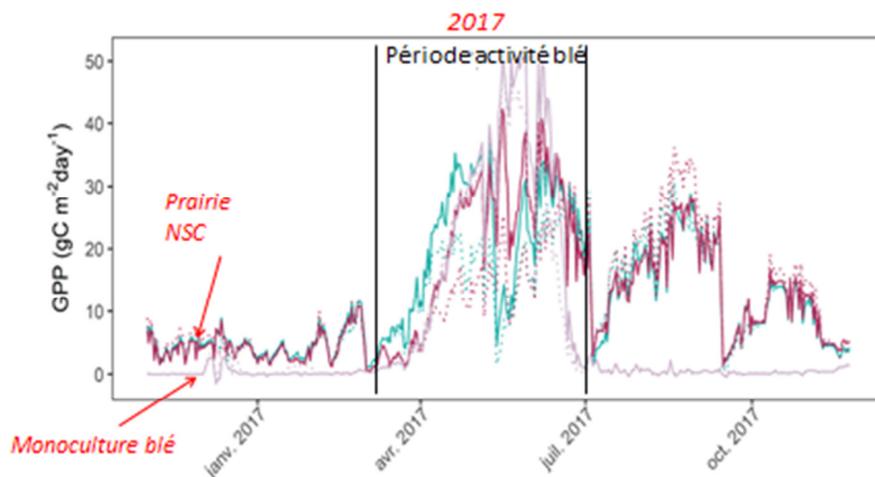


Figure 58 Variation saisonnière de la photosynthèse brute de trois modèles d'agrosystèmes : prairie, blé sur sol nu, blé dans la prairie.

3.3.3.c Performances agro-environnementales des couverts en lien avec le degré de synchronisation offre-demande

Les différences de fonctionnement (présence ou non d'un mécanisme de banque) entre le BLE d'un côté, la P et le NSC de l'autre, se traduisaient par des performances agro-environnementales contrastées. Les pertes d'azote par lessivage étaient réduites d'un facteur vingt-sept dans la P et le NSC par rapport au BLE (Figure 59).

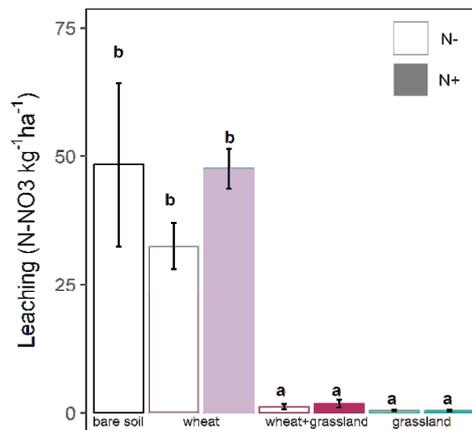


Figure 59 Perte d'azote par lessivage de nitrates dans les trois agrosystèmes étudiés: prairie, blé sur sol nu, blé dans la prairie.

De plus, la production de biomasse aérienne était deux fois plus élevée dans la P et le NSC que dans le BLE (Figure 60). Ces résultats illustrent l'importance du mécanisme de banque pour la multifonctionnalité des écosystèmes et montrent que le compromis entre productivité et performance environnementale n'est pas une fatalité. Il est important de souligner que la fixation d'azote symbiotique par la légumineuse dans P et NSC a très probablement contribué à lever la limitation en azote de la production de biomasse végétale contribuant avec le mécanisme de banque à cette bonne performance du NSC et de la P.

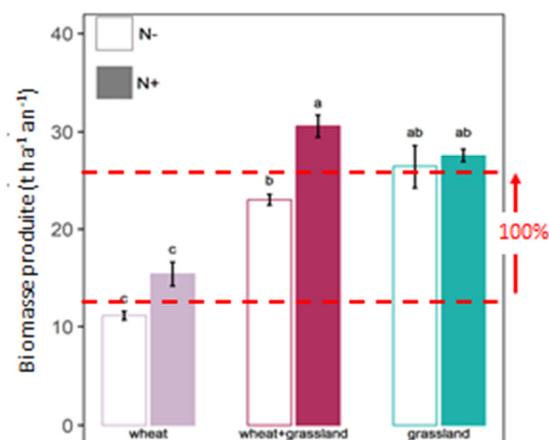


Figure 60 Production de biomasse aérienne par les trois agrosystèmes étudiés: prairie, blé sur sol nu, blé dans la prairie.

3.4 Réponse des cycles biogéochimiques à l'augmentation du CO₂ atmosphérique et aux retombées d'azote atmosphérique

L'impact de l'augmentation du CO₂ atmosphérique et des retombées d'azote atmosphérique sur les cycles carbone-azote a été étudié avec le modèle *Symphony* incluant les deux groupes fonctionnels microbiens. *Symphony* prévoit, en réponse à l'augmentation de CO₂ atmosphérique, une stimulation de la production végétale soutenue par le mécanisme de banque délivrant les nutriments (Figure 61). Cependant, contrairement aux prédictions des modèles actuels, *Symphony* indique que l'augmentation des incorporations de carbone dans le sol par le couvert végétal sous CO₂ élevé, se traduit par une accélération du turnover du carbone du sol et non par une augmentation du stockage de carbone. Cette prédiction a été récemment validée par une méta-analyse sur les résultats des expérimentations étudiant la réponse de la productivité et le stockage de carbone des écosystèmes à des concentrations élevées en CO₂ (Groenigen et al., 2014b). Plus précisément, *Symphony* prévoit une diminution des stocks de matières organiques des sols si l'augmentation du CO₂ atmosphérique s'accompagne d'une augmentation de la sortie d'azote de l'écosystème *via* une augmentation des productions (e.g. fourrage) et donc des exportations par exemple (Figure 61). En effet, le mécanisme de banque compense la sortie d'azote de l'écosystème par une libération d'azote des matières organiques du sol permettant la persistance de la biomasse vivante.

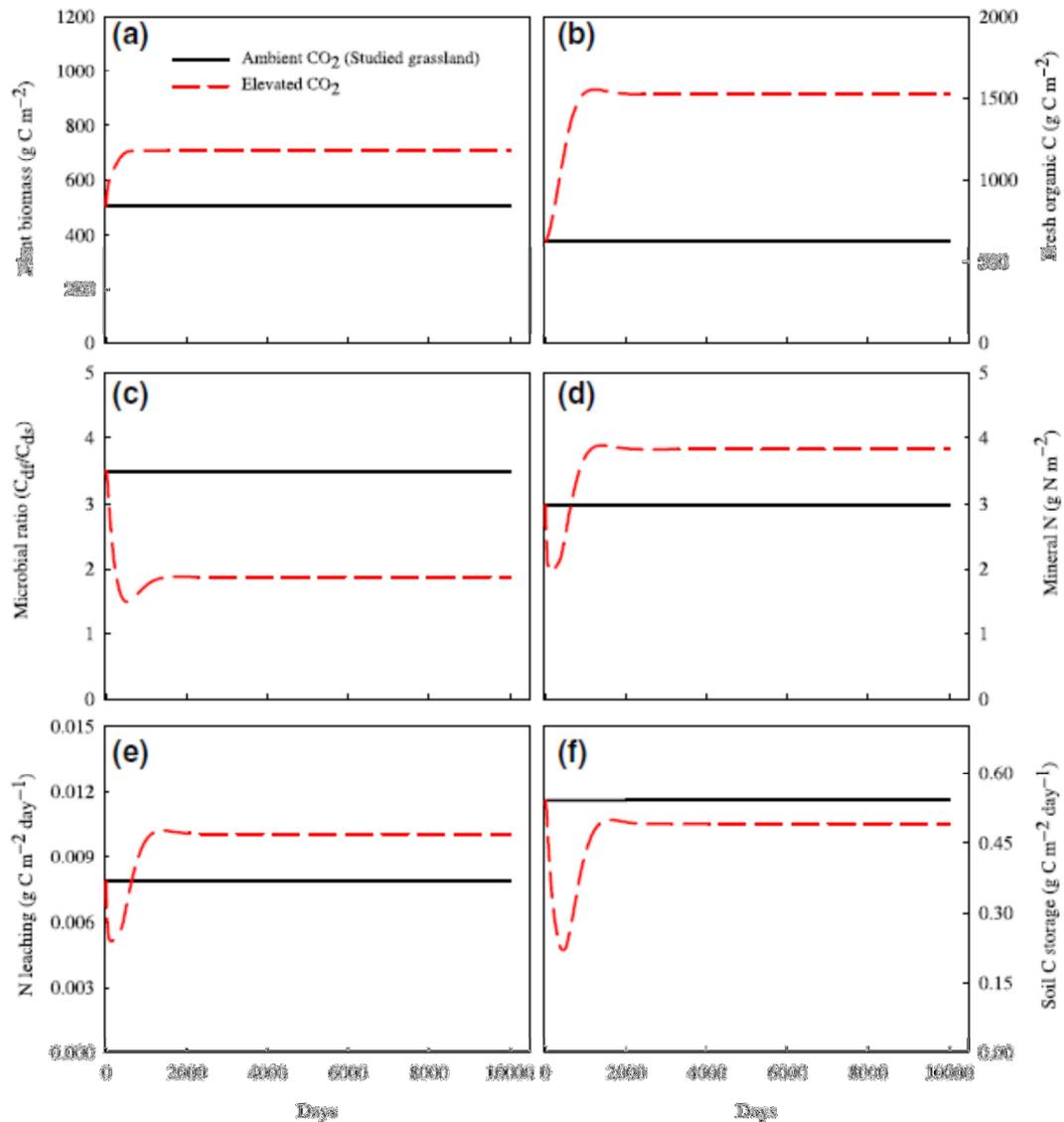


Figure 61 Effet d'augmentation de la concentration en CO₂ atmosphérique sur les groupes fonctionnels microbiens et les principaux compartiments et flux carbone-azote de l'écosystème simulé par Symphony. Les microorganismes I et M sont respectivement appelés C_{df} et C_{ds} sur ce graphique (ils sont nommés ici par rapport au type de matière organique dont ils se spécialisent, carbone frais ou carbone du sol).

Au final *Symphony* montre que l'évolution du stock de carbone du sol est déterminé par le bilan d'azote à l'échelle de l'écosystème (somme des entrées – somme des sorties). Un bilan net négatif, signifiant une exportation nette d'azote de l'écosystème se traduit par une diminution continue du stock de carbone du sol (Figure 62). Au contraire, un bilan positif déclenche une accumulation de matières organiques du sol. En cohérence, *Symphony* prévoit que l'augmentation des retombées d'azote atmosphérique devrait favoriser le stockage de carbone dans les sols. Cette prédiction est soutenue par plusieurs expérimentations montrant une décélération de la minéralisation microbienne et une accumulation du carbone du sol en réponse à une fertilisation azotée des écosystèmes (Bowden et al., 2004; Dijkstra et al., 2004; Hagedorn et al., 2003). Il est important de souligner que ce résultat n'est valable que si toute chose est égale par ailleurs. Par exemple, la diminution de la fixation symbiotique par les légumineuses pourrait annuler tout ou partie de l'effet positif des retombées d'azote atmosphérique sur le stockage de carbone.

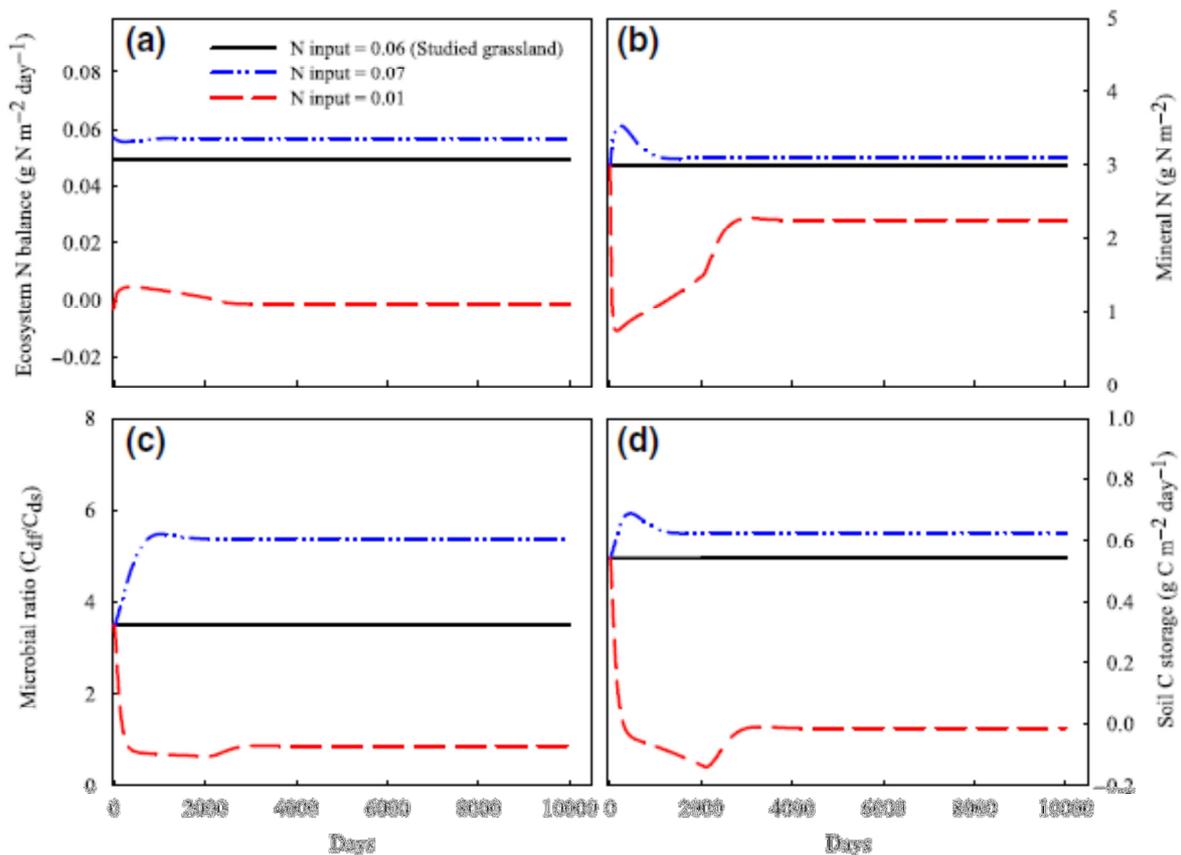


Figure 62 Effet de la quantité d'N entrant dans l'écosystème (e.g. par retombée d'azote atmosphérique) sur le bilan azoté de l'écosystème, la teneur en azote minéral, sur les groupes fonctionnels microbiens et le stockage de carbone dans le sol. Les microorganismes I et M sont respectivement appelés Cdf et Cds sur ce graphique (ils sont nommés ici par rapport au type de matière organique dont ils se spécialisent, carbone frais ou carbone du sol).

J'ai également mis en place deux incubations distinctes, impliquant respectivement un sol de savane tropical et un sol de prairie tempérée, afin de démontrer plus directement (sans l'interaction avec les plantes) l'impact de la disponibilité des nutriments minéraux sur les activités des groupes fonctionnels microbiens M et I et le (dé)stockage de carbone dans le sol. Dans les deux études, de la cellulose était incorporée dans le sol comme source de carbone frais pour les microorganismes. Les résultats des deux études convergeaient: la disponibilité en nutriments pour les microorganismes détermine l'intensité du priming effect et le bilan de carbone du sol. Dans les sols riches en nutriments minéraux, le priming était faible et l'apport de carbone conduisait à une accumulation de carbone dans le sol du fait de l'humification du carbone apporté (Table 4). Au contraire, le priming était si intense dans le sol pauvre en nutriments minéraux que les pertes en carbone ancien du sol dépassaient la formation du carbone nouveau. En conclusion, l'apport de carbone dans un sol peut augmenter ou diminuer le stock de carbone du sol en fonction de la disponibilité des nutriments pour les microorganismes.

	Low nutrient	High nutrient
(a) ^{13}C added	495	495
(b) ^{13}C lost as CO_2	-365 ± 21	-318 ± 3
(c) ^{13}C remaining in soil	110 ± 11	140 ± 4
(d) ^{12}C lost as CO_2 because of PE	-140 ± 3	-72 ± 15
Soil carbon balance (c + d)	-30 ± 11	$+68 \pm 19$

Table 4 Bilan de carbone du sol suite à un apport de cellulose dans un sol de savane tropicale.

3.5 Rôle des enzymes et de leurs propriétés thermodynamiques dans la réponse des processus biogéochimiques à la température

L'analyse de la nouvelle théorie (Alvarez et al., 2018b) sur la réponse à la température des activités enzymatiques et processus biocatalytiques montrait la nécessité de distinguer la vitesse instantanée (V_{\max}) et le pouvoir catalytique (E_{power}) d'un pool d'enzymes. Le concept de pouvoir catalytique des enzymes est particulièrement important à considérer lorsque des processus sont étudiés dans des systèmes pérennes (e.g. processus de minéralisation microbienne dans les écosystèmes) puisqu'il correspond aux activités enzymatiques cumulées jusqu'à l'inactivation complète des enzymes. Dans notre étude où le processus d'inactivation thermique des enzymes était pris en compte, la réponse à la température des variables V_{\max} et E_{power} dépendait des énergies d'activation de l'activité catalytique spécifiques (EA_{cat}) et de l'inactivation thermique (EA_{inact}), et en particulier du delta entre ces deux énergies (ΔEA). Une analyse approfondie de la littérature complétée de mesures supplémentaires ont permis de montrer un delta négatif universel à toutes les enzymes (Table 5).

Organism	Enzyme	Organism T_{growth} (°C)	Activation energy of		Reaction class	References
			Catalysis EA_{cat} (kJ/mol)	Inactivation EA_{inact} (kJ/mol)		
Nc	Tannase	–	17 ^b	85 ^b	Hydrolase	Nie et al. (2012)
<i>Aspergillus niger</i>	Tannase	–	23 ^b	69 ^b	Hydrolase	Yu and Li (2006)
<i>Trichoderma reesei</i>	Xylanase	–	32 ^b	311 ^b	Hydrolase	Cobos and Estrada (2003)
<i>Ganoderma lucidum</i>	Lipase	–	13 ^b	79 ^b	Hydrolase	Bhatti and Amin (2013)
<i>Trichoderma viride</i>	Chitinase	–	34 ^b	75 ^b	Hydrolase	Table 1
<i>Agrobacterium</i> sp.	β -Glucosidase	–	34	96	Hydrolase	Appendix S1
ASB HK47	Alkaline phosphatase	15	55 ^a	90 ^a	Hydrolase	Lee et al. (2007)
Wheat germ	Acid Phosphatase	20	79 ^a	95 ^a	Hydrolase	Lee et al. (2007)
<i>P. dulcis</i>	β -Glucosidase	20	63 ^a	95 ^a	Hydrolase	Lee et al. (2007)
<i>P. fluorescens</i>	ATPase	25	74 ^a	92 ^a	Hydrolase	Lee et al. (2007)
<i>S. cerevisiae</i>	α -Glucosidase	28	71 ^a	90 ^a	Hydrolase	Lee et al. (2007)
<i>B. taurus</i>	Alkaline phosphatase	39	57 ^a	97 ^a	Hydrolase	Lee et al. (2007)
<i>G. stearothermophilus</i>	α -Glucosidase	55	64 ^a	96 ^a	Hydrolase	Lee et al. (2007)
<i>T. aquaticus</i>	α -Glucosidase	70	88 ^a	103 ^a	Hydrolase	Daniel et al. (2008)
<i>C. saccharolyticus</i>	β -Glucosidase	70	81 ^a	98 ^a	Hydrolase	Lee et al. (2007)
<i>Thermus</i> sp. RT41a	Alkaline phosphatase	75	72 ^a	99 ^a	Hydrolase	Lee et al. (2007)
<i>R. glutinis</i>	Ammonia-Lyases	24	80 ^a	97 ^a	Lyase	Lee et al. (2007)
<i>S. scrofa</i>	Fumarase	39	60 ^a	92 ^a	Lyase	Lee et al. (2007)
Potato tubers	5-lipoxygenase	-	28 ^b	110 ^b	Oxidase	Lagutina, Sudina, and Varfolomeev (1990)
Beef liver	Catalase	-	18 ^b	230 ^b	Oxidoreductase	Sizer (1944)
Horseradish	Peroxidase	-	19 ^b	180 ^b	Oxidoreductase	Table 1
<i>M. profunda</i>	Dihydrofolate reductase	2	67 ^a	93 ^a	Oxidoreductase	Lee et al. (2007)
<i>B. psychrophilus</i>	3-isopropylmalate dehydrogenase	20	72 ^a	100 ^a	Oxidoreductase	Lee et al. (2007)
<i>B. subtilis</i>	3-isopropylmalate dehydrogenase	30	73 ^a	94 ^a	Oxidoreductase	Lee et al. (2007)
<i>B. cereus</i>	Dihydrofolate reductase	30	66 ^a	90 ^a	Oxidoreductase	Lee et al. (2007)
<i>C. utilis</i>	Glutamate dehydrogenase	31	57 ^a	94 ^a	Oxidoreductase	Lee et al. (2007)
<i>B. taurus</i>	Malate dehydrogenase	39	53 ^a	85 ^a	Oxidoreductase	Lee et al. (2007)
<i>B. taurus</i>	Glutamate dehydrogenase	39	63 ^a	93 ^a	Oxidoreductase	Lee et al. (2007)
<i>E. coli</i>	Malate dehydrogenase	40	55 ^a	96 ^a	Oxidoreductase	Lee et al. (2007)
<i>G. stearothermophilus</i>	Dihydrofolate reductase	55	67 ^a	97 ^a	Oxidoreductase	Lee et al. (2007)
<i>B. caldovelox</i>	3-isopropylmalate dehydrogenase	70	76 ^a	101 ^a	Oxidoreductase	Lee et al. (2007)
<i>B. taurus</i>	γ -Glutamyl transferase	39	63 ^a	98 ^a	Transferase	Lee et al. (2007)
<i>Thermoplasma acidophilum</i>	Citrate synthetase	70	88 ^a	103 ^a	Transferase	Daniel and Danson (2013)

Table 5 Energies d'activation de l'activité catalytique spécifiques (EA_{cat}) et de l'inactivation thermique (EA_{inact}) de 33 enzymes libérées par des organismes issus de différents environnements thermiques. L'analyse des données montrent une tendance universelle $EA_{\text{inact}} > EA_{\text{cat}}$.

En analysant les équations de V_{max} et E_{power} nous avons pu montrer que maximiser EA_{inact} et minimiser EA_{cat} permet d'augmenter les valeurs de V_{max} et E_{power} quelque soit l'environnement thermique. Biologiquement, ces résultats signifient que les organismes peuvent augmenter le pouvoir catalytique de leurs enzymes en les rendant les plus stables (fort EA_{inact}) et les plus actives (faible EA_{cat}) possible. Par conséquent, le patron universel $EA_{\text{inact}} > EA_{\text{cat}}$ peut provenir d'une sélection évolutive d'organismes avec les enzymes les plus efficaces bien qu'il existe des contraintes physiques qui expliquent pourquoi ΔEA ne tend pas vers l'infini (Table 5)(Alvarez et al., 2018b).

La contrepartie de ce patron $EA_{inact} > EA_{cat}$ est que la sensibilité à la température de l'inactivation thermique des enzymes est supérieure à celle de l'activité catalytique, résultant en une réduction du pouvoir catalytique des enzymes sous réchauffement.

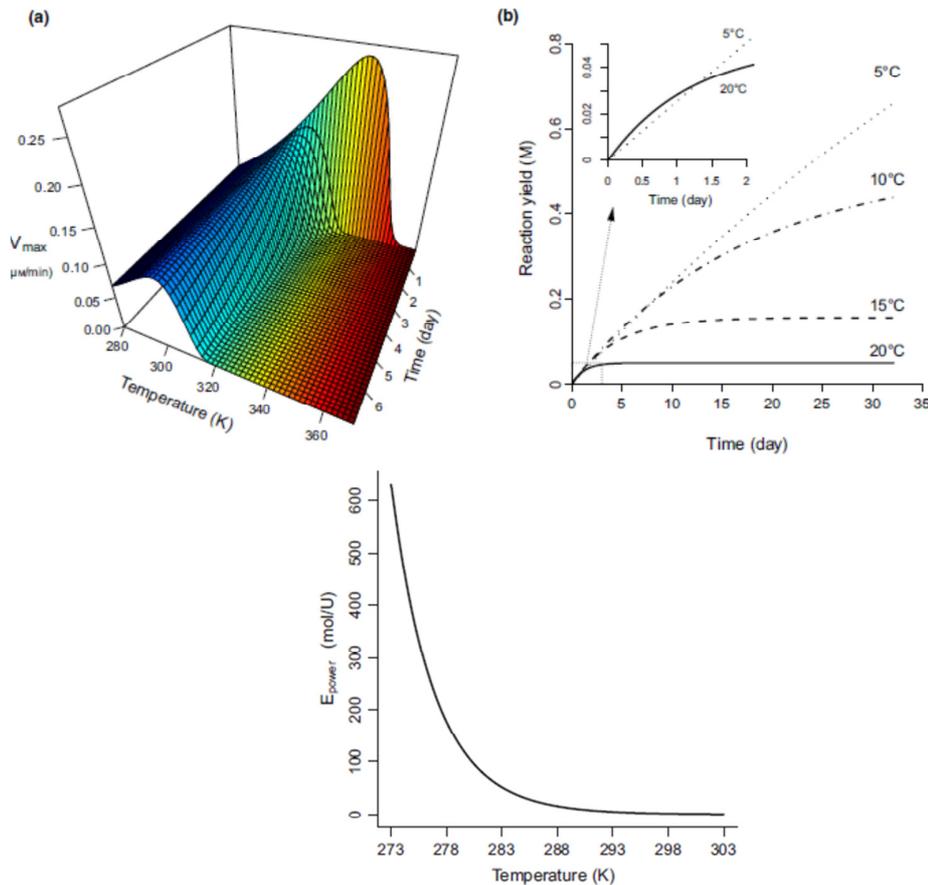


Figure 63 Réponse à la température de la vitesse instantanée (V_{max}), du rendement de réaction et du pouvoir catalytique (E_{power}) des enzymes.

Ces résultats permettent de poser un nouveau regard sur l'effet de la température sur les organismes et les processus biocatalytiques. Tout d'abord, les enzymes n'ont pas d'optimum de température. Cet optimum est un « artefact » de mesure dont la valeur dépend du moment à laquelle est effectuée la mesure (Figure 63). Plus le temps entre le début de l'essai enzymatique et la mesure de l'activité (=durée d'incubation) est long, plus la température optimale glisse vers les basses températures. Par contre, les énergies d'activation EA_{inact} et EA_{cat} sont de véritables traits enzymatiques permettant de prévoir la réponse à la température de la vitesse instantanée (V_{max}) et du pouvoir catalytique des enzymes (E_{power}). Ce pouvoir diminue avec le réchauffement signifiant que pour maintenir un même niveau d'activité enzymatique les microorganismes doivent produire une plus grande quantité d'enzymes. Ce résultat est une explication de l'effet négatif de la température sur l'efficacité de formation de la biomasse (Carbon use efficiency) et la biomasse des microorganismes. La nouvelle théorie permet également de rendre

compte du changement au cours du temps de l'effet d'un réchauffement sur la minéralisation microbienne des matières organiques (Figure 64)(Luo et al., 2001). La stimulation instantanée de la minéralisation suite à une élévation de la température serait expliquée par l'effet immédiat du réchauffement sur les activités catalytiques des enzymes tandis que « l'acclimatation » découlerait d'une inactivation lente des enzymes.

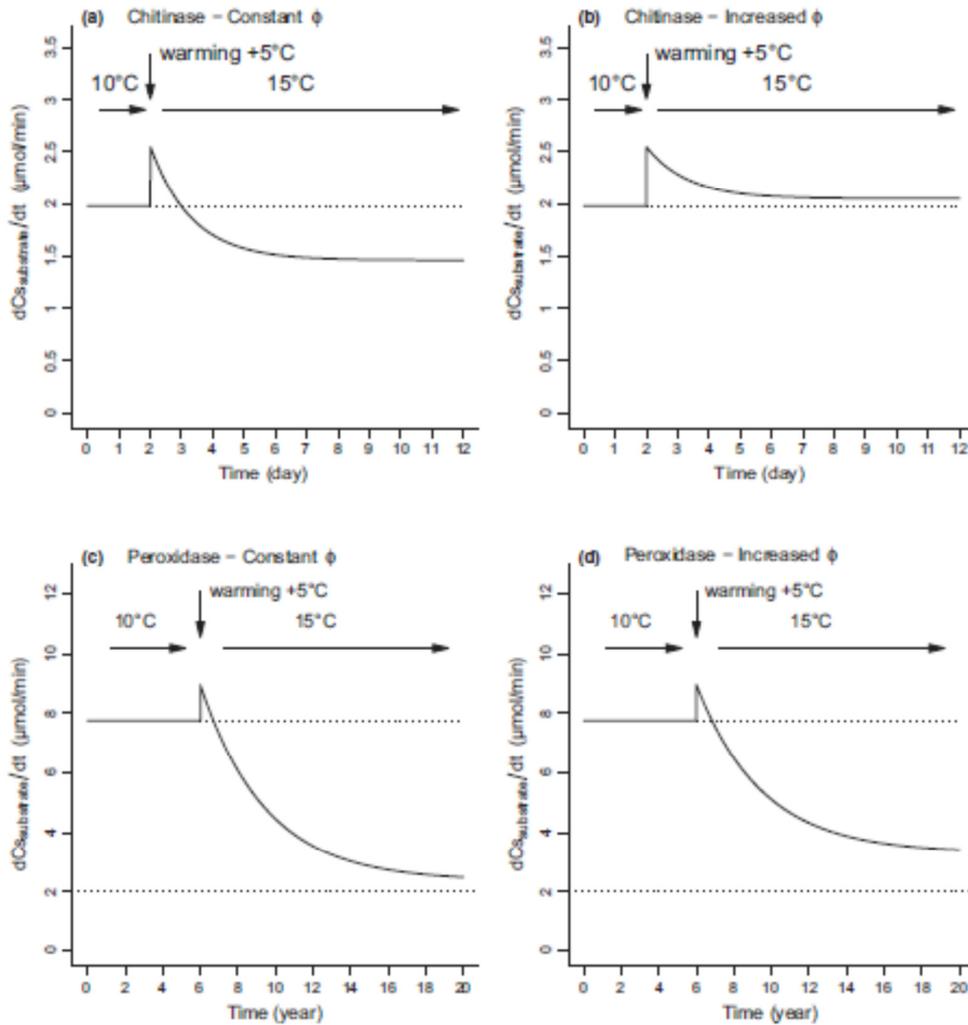


Figure 64 Réponse à la température de la vitesse de dégradation des matières organiques du sol simulée en considérant les paramètres thermodynamiques de deux exemples d'enzymes (chitinase et peroxydase) et un flux de production microbienne d'enzymes constant ou augmentant avec le réchauffement.

La théorie prévoit que l'effet ultime de la température sur la minéralisation des matières organiques peut être positif ou négatif en fonction de la sensibilité relative à la température du pouvoir catalytique et de la production microbienne d'enzymes. Cependant, pour un niveau constant de production d'enzymes quel que soit la température (hypothèse selon laquelle la production d'enzymes serait dans tous les cas limitée par la quantité de carbone frais déposé par les plantes), la théorie prévoit un ralentissement de la minéralisation des matières organiques en réponse à un réchauffement. Ces

nouvelles prédictions donnent une explication théorique à de nombreuses observations (listées dans (Alvarez et al., 2018b)) suggérant que le réchauffement ne conduit pas nécessairement à une accélération de la minéralisation et à une perte des matières organiques du sol. Il sera décrit dans la partie projet de l'HDR comment cette théorie pourra être testée.

4. Applications biotechnologiques de l'EXOMET : présentation du brevet.

L'invention, laquelle a fait l'objet d'un dépôt de brevet à l'office européen des brevets (EPO) sous le numéro 16162941.5, consiste en des méthodes *in vitro* de reconstitution, manipulation et couplage de réactions biochimiques multiples habituellement rencontrées à l'intérieur des cellules vivantes en utilisant des particules de sol (matrice sol) et des composés extraits de cellules (substrats, enzymes, co-facteurs).

L'invention repose sur la découverte que certaines particules du sol contiennent de nombreux catalyseurs minéraux et organiques (enzymes, minéraux, métaux) capables de catalyser des cascades de réactions biochimiques habituellement rencontrées dans les cellules vivantes. Ce phénomène a été décrit pour la première fois par Maire et al. (2013) qui démontrait la présence d'activités respiratoires dans des sols stérilisés.

Les « inventeurs » ont confirmé ces observations par des investigations sur un grand nombre de sols et la démonstration d'une très grande stabilité des catalyseurs du sol et des réactions biochimiques en chaîne. Par exemple, il a été montré que les activités respiratoires et d'oxydation du glucose en absence de cellules peuvent être maintenues pendant plus de 1600 jours (Figure 65).

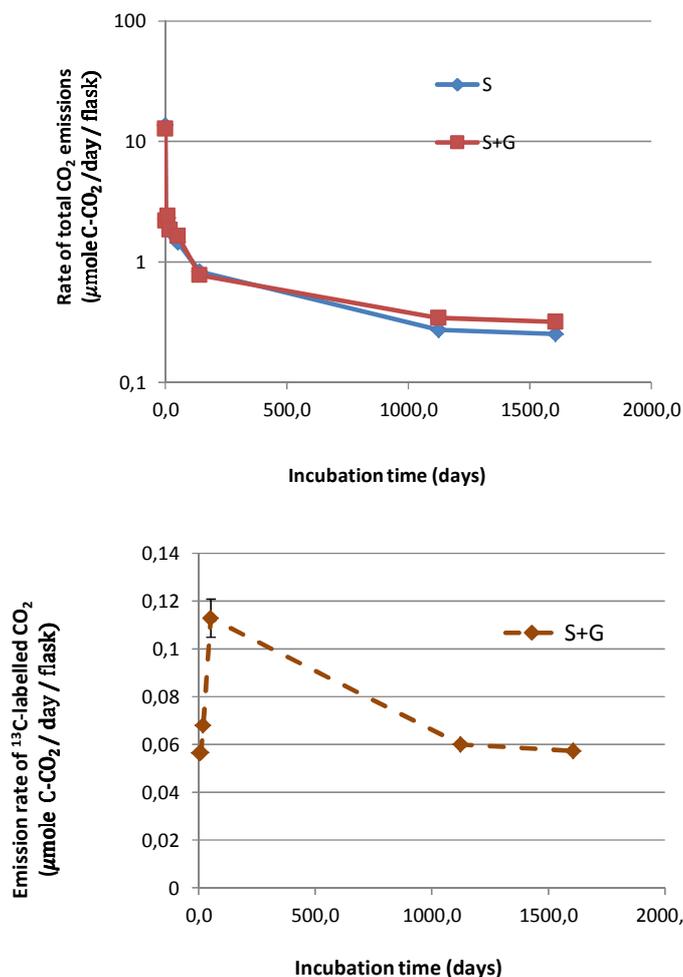


Figure 65 Maintien des activités de respiration et d'oxydation du glucose (marqué au ¹³C) pendant plus de 1600 jours dans un sol dépourvu de cellules vivantes.

Les « inventeurs » ont également développé des complexes biocatalytiques composés de sols stérilisés au rayon γ au sein desquels des cascades de réactions biochimiques sont utilisées dans le but de :

- 1) Produire de l'électricité à partir de l'oxydation complète de matière organique dans des « batteries respirantes »
- 2) Produire des composés organiques d'intérêt au travers d'une ingénierie métabolique utilisant les catalyseurs du sol ou les particules de sol pour stabiliser des enzymes. Les produits considérés peuvent être du combustible, de la nourriture et des composés chimiques à forte valeur. L'invention peut également servir à convertir des composés minéraux (CO₂, H₂O) et de l'électricité en matières organiques, c'est donc un moyen de stockage de l'énergie.

Dans un souci de synthèse, je présente ici uniquement les résultats d'un exemple de batterie respirantes utilisant la matrice sol à l'anode. Afin de montrer l'intérêt de l'invention par rapport à l'existant (batteries respirantes benthiques utilisant les microorganismes comme catalyseurs des réactions), nous

avons comparé les performances d'une batterie utilisant du sol stérile avec celles d'une « batterie benthique » construite avec du sol non stérilisé contenant des microorganismes vivants.

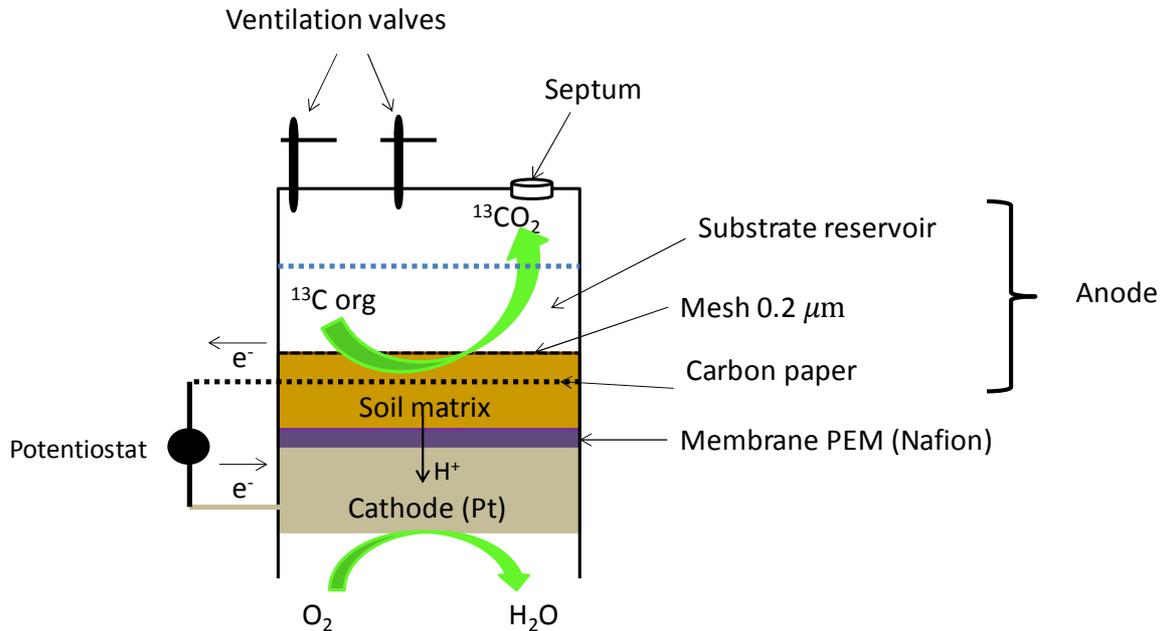


Figure 66 Description d'une batterie construite à partir d'une matrice sol à l'anode et de platine à la cathode. Les substrats organiques (carbone organique du sol avec ou sans glycérol, pyruvate et keto-glutarate) sont oxydés à l'anode libérant du CO_2 , des protons (H^+) et des électrons. Les électrons passent de l'anode à la cathode à travers un fil métallique générant un courant électrique. Les protons diffusent de l'anode à la cathode où ils vont réduire l' O_2 en H_2O .

La cathode consistait de sol stérilisé (Sol du SOERE de l'INRA de Theix, Cambisol) par rayons γ mélangé à un électrolyte (potassium phosphate) et à un papier carbone collectant les électrons générés par les réactions d'oxydation (Figure 66). Les substrats étaient marqués au ^{13}C afin de suivre spécifiquement leur décomposition et la séparer de la décomposition du carbone du sol. La cathode consistait en plaque de platine. Le catholyte (potassium phosphate) était régulièrement ventilé avec de l'air synthétique (O_2 , N_2) afin d'assurer les conditions d'oxydation. La batterie a été assemblée et maintenue en condition stérile tout au long de l'expérience.

Les consommations des substrats organiques et de l'oxygène ont été suivies par prélèvements de gaz et analyse de la concentration en O_2 et CO_2 et delta ^{13}C du CO_2 après fermeture étanche de la biobatterie. La caractérisation électrochimique de la batterie consistait en la mesure de la tension en circuit ouvert et les puissances de sortie de la batterie. Pour la mesure des puissances de sortie, des résistances variables (15 K Ω - 30 Ω) ont été appliquées aux bornes de la batterie. La puissance délivrée était déterminée par la mesure du courant produit et de la tension aux bornes de la batterie. Les courants et les puissances délivrés sont exprimés par unité de surface de cathode. L'efficacité de conversion du carbone organique en électricité (C mmole $^{-1}$ C- CO_2) était calculée comme suit :

$$\varepsilon = \frac{I}{Resp}$$

Où I est l'intensité de courant (A ou $C s^{-1}$) and $Resp$ est la vitesse de respiration des substrats ($mmole C-CO_2 s^{-1}$).

La stabilité au cours du temps de la pile a été évaluée en réalisant les mesures précédentes 10, 50 et 100 jours après construction de la pile.

Les deux types de batteries (celle de l'invention *versus* batterie benthique) généraient une production de courant quantifiable (Figure 67). Ce résultat signifie que la respiration des microorganismes et les métabolismes oxydatifs acellulaires (EXOMET) génèrent des flux d'électrons dans le sol dont une fraction est récupérable à des fins de production d'électricité. Les deux types batteries montraient une augmentation graduelle de la puissance délivrée avec la diminution de la résistance appliquée jusqu'à un maximum au-delà duquel la puissance chutait. Cette puissance maximale est atteinte lorsque la résistance externe est égale à la résistance interne (Menicucci et al., 2006). Quel que soit la résistance appliquée, l'intensité de courant et la densité de puissance étaient systématiquement plus fortes pour l'invention que pour la batterie benthique.

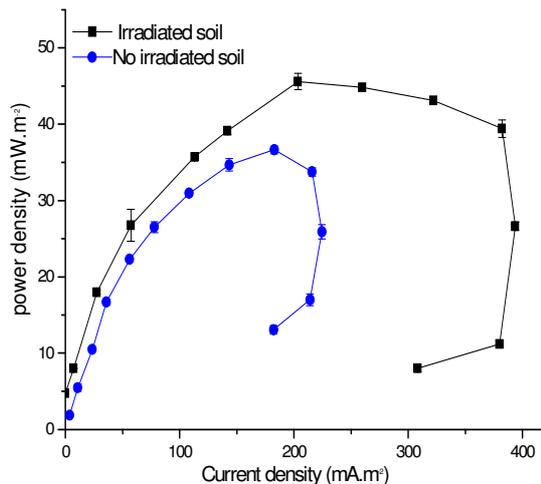


Figure 67 Profil de densité de courant et de puissance délivrée par des batteries construites avec du sol irradié (invention) et non irradié (batterie benthique classique).

La puissance maximale délivrée était supérieure pour l'invention que pour la batterie benthique (45,7 versus 35,67 mW m⁻²). De plus, l'invention était capable de maintenir une forte puissance délivrée sur une large gamme de densité de courant (et donc de résistance) tandis que la puissance délivrée par la batterie benthique diminuait rapidement à partir d'une densité de courant supérieur à 160 mA m⁻². Collectivement, ces résultats montraient à la fois l'effet négatif de la présence des microorganismes sur la production de courant et l'intérêt d'utiliser les catalyseurs libres du sol pour produire de l'électricité (l'invention). Les microorganismes détournent une part substantielle de l'énergie des substrats pour alimenter leurs activités cellulaires (entretien de la cellule, reproduction...) diminuant l'énergie disponible pour la production de courant. Cette perte d'énergie en présence des microorganismes est

quantifiable par la mesure de l'efficacité de conversion du carbone organique en électricité. Cette efficacité passait de 831 C mmole⁻¹ C-substrat pour la batterie benthique à 3654 mmole⁻¹ C-substrat pour l'invention.

Dans le but d'augmenter la performance électrique de l'invention, les caractéristiques de la pile ont été mesurées avant et après ajustement de substrats. Par exemple, la Figure 68 montre que l'apport de pyruvate augmentait la densité de puissance maximale de 45,7 à 97 mW m⁻².

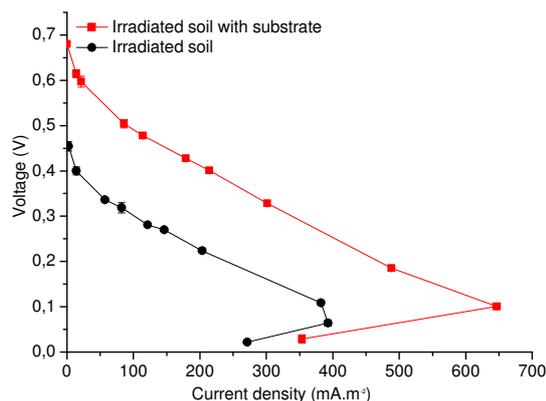


Figure 68 Effet de l'apport de pyruvate sur les profils de voltage et de densité de courant d'une pile construite avec du sol stérilisé à l'anode (l'invention).

Ces résultats démontrent que les réactions redox contrôlant la libération des électrons sont limitées par la disponibilité des substrats. Ils indiquent également la possibilité d'optimiser la performance électrique des batteries proposées en augmentant la concentration des substrats solubles. La comparaison de la puissance maximale délivrée par l'invention à celle d'autres types batteries respirantes montrent que l'invention a des performances bien plus élevées que les batteries benthiques mais plus faibles que les batteries enzymatiques (Table 6).

Anodic biocatalyst	Anode material	Cathode material	Power density (mW.m ⁻²)	References
Irradiated soil	carbon cloth	Platinum	97.71	This work
S. platensis	Gold	Graphite	10	Lin et al, 2013
S. platensis	platinum	Platinum	6.5	Fu et al, 2010
Mixed microalgae	Graphite	Graphite	0.004	Venkata et al, 2013
Mixed bacteria	Graphite	Graphite	110	Strik et al, 2008
Activated sludge	Carbon fiber	Carbon Fiber	7	Lobato et al, 2013
Mixed bacteria	Carbon paper	Platinum	39	Logan et al, 2005
Enzyme GOx/Laccase	Carbon paper	Platinum	1800	Zhu et al, 2014
Benthic microbial	Stainless steel/graphite	Stainless steel/zinc	20	Dumas et al, 2007

Table 6 Comparaison des densités de puissance maximale entre des batteries respirantes existantes (batteries benthiques et enzymatiques) et l'invention.

Le seuil de puissance ouvrant à des applications est de l'ordre de 1W m^{-2} donnant un ordre de grandeur des efforts d'optimisation à réaliser.

Un des principaux freins au développement des batteries respirantes concerne leur faible durée de vie. Les batteries enzymatiques ont des durées de vie très courtes (quelques heures à jours) du fait de l'inactivation des enzymes. Les batteries benthiques ont des durées de vie plus longues (quelques mois) mais cela reste insuffisant du fait de la dégradation des électrodes par le développement microbien. Dans ce registre, les performances de l'invention sont inégalées. La batterie construite avec du sol irradié maintenait 95% de sa densité de puissance originelle après cinq mois de stockage à 25°C . Faisant l'hypothèse d'une diminution exponentielle de la densité de puissance avec le temps, la demi-vie de la batterie a été estimée à 5,6 ans. Cette durabilité exceptionnelle est expliquée par la stabilité des catalyseurs du sol lesquels sont constitués de minéraux, de métaux et d'enzymes stabilisées et protégées par les particules du sol (Kéroual et al., 2016; Maire et al., 2013c).

En conclusion, l'utilisation des particules du sol comme catalyseurs des cascades redox de la respiration lève un verrou majeur du développement des nouvelles générations de batteries dites respirantes. Elles constituent des batteries de faibles puissances (autour du W m^{-2}) pouvant alimenter des petits appareils électriques (enregistreur, pace maker, lampe...) sur de longues durées. L'avantage principal de ces batteries par rapport à l'existant concerne la biodégradabilité de leurs constituants et de leurs substrats. La dispersion à grande échelle de ces batteries ne constitue pas un risque pour la santé et l'environnement. La production de ces batteries est peu polluante pour l'environnement comparé aux piles utilisant des métaux rares (lithium, platine etc) dont l'extraction nécessite beaucoup d'énergie et de produits chimiques. La recharge de la batterie peut être immédiate en apportant du substrat.

PROJET DE RECHERCHE

1. Inflexion et vision globale du projet

Ces quinze années de recherche faisant suite à mon doctorat ont permis d'améliorer substantiellement la compréhension de processus et des facteurs biotiques et abiotiques contrôlant les flux de matière dans les écosystèmes. En particulier, les avancées significatives sur le rhizosphère priming effect rendent possible ce processus prévisible au point qu'il est maintenant intégré dans des modèles d'écosystèmes (Perveen et al., 2014) et globaux biosphère-climat-océan (Guenet et al., 2016, 2018).

Le renouvellement de mes questions de recherche à partir de 2010 a conduit à une série de découvertes dont une voie de respiration non cellulaire dans les sols (EXOMET) et une nouvelle théorie sur l'effet de la température sur les activités enzymatiques. Ces découvertes ouvrent de nouvelles voies de recherches dans les domaines de la biogéochimie, l'origine de la vie et les biotechnologies lesquelles sont actuellement reprises par des équipes chinoises et américaines (Blankinship and Schimel, 2018; Blankinship et al., 2014; Wang et al., 2017). L'EXOMET étant loin d'être comprise et la théorie de l'effet de la température restant à être expérimentalement testée, ces voies de recherche seront poursuivies dans mon projet de recherche pour les cinq à dix années à venir (Figure 69). L'originalité de ces sujets a attiré des collaborateurs sur la place clermontoise (LMGE UCA-CNRS), propice à la mise en place de travaux communs utilisant les compétences complémentaires de nouveaux laboratoires respectifs. Des collaborateurs étrangers se sont également joints apportant leurs compétences en enzymologie et l'accès aux réseaux internationaux de mesure des échanges de CO₂ dans les écosystèmes (Matthew D. Wallenstein, Université du Colorado ; Michael Bahn, Université d'Innsbruck). S'ajoutant à l'équipe de base de l'UREP avec qui je travaille quotidiennement, ces collaborations externes contribuent à relever ces défis.

Autorégulation des écosystèmes terrestres: limites et opportunités dans un contexte de transition écologique et climatique.

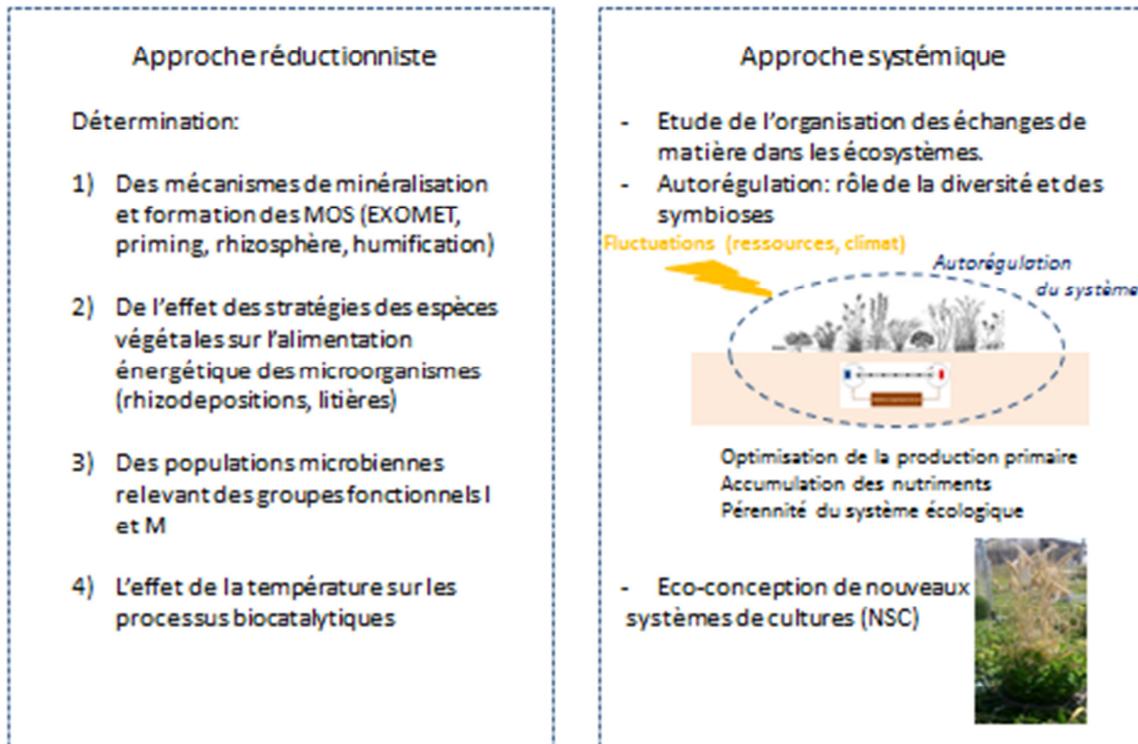


Figure 69 Objectif principal et approches du projet de recherche envisagé pour les cinq à dix ans.

Cette approche réductionniste de l'étude des flux de matière dans les écosystèmes est nécessaire mais insuffisante. Les organismes vivants interagissent entre eux et avec leur milieu créant un système ayant des propriétés émergentes. Mon étude systémique des échanges de matière au sein de l'écosystème a révélé le paradoxe d'une synchronisation entre l'offre en nutriments contrôlée par les microorganismes du sol et la demande fluctuante des plantes. La modélisation a montré que cette synchronisation offre-demande est une condition de persistance des écosystèmes tels qu'on les connaît actuellement. Mes travaux ont également mis en lumière un mécanisme d'interactions entre le couvert végétal et deux groupes fonctionnels microbiens (mécanisme de banque) contribuant à la synchronisation offre-demande. **Ces résultats suggèrent une organisation de la biocénose autour d'un système autorégulé optimisant les échanges de matière dans le but de garantir la pérennité des parties prenantes et une utilisation maximale de l'énergie lumineuse dans un environnement physique fluctuant. Une grande partie de mon projet de recherche sera dédiée à l'exploration de cette hypothèse d'autorégulation des écosystèmes.**

Ces recherches sur l'autorégulation des écosystèmes seront menées de concert avec un autre objectif de recherche de mon projet tourné vers une application, la création de nouveaux systèmes de culture agroécologiques (NSC). Le modèle actuel des grandes cultures, basé sur l'implantation d'une ou quelques espèces annuelles, n'est pas durable conduisant à une dégradation des sols et à la pollution de l'air (gaz à

effet de serre) et des eaux (nitrates, phosphates). L'idée des NSC est de s'inspirer de l'organisation fonctionnelle des écosystèmes naturels afin de rétablir dans les cultures des régulations écologiques des cycles biogéochimiques (e.g. synchronisation offre-demande). Le principe des NSC est d'assembler des plantes annuelles cultivées avec des plantes pérennes extraites des milieux naturels et choisies pour les régulations qu'elles entretiennent au sein du système.

Ce projet de recherche centré sur une approche systémique du fonctionnement des écosystèmes rejoignait les aspirations de mes collègues d'UMR et a donc naturellement alimenté le projet de recherche de l'UMR que nous avons construit pour le prochain quadriennal (2021-2025). Autrefois séparés dans des volets de recherche distincts, les chercheurs de l'UMR en écologie des communautés, en écologie fonctionnelle (biogéochimie) et en agronomie se sont réunis autour d'un projet de recherche construits sur deux volets complémentaires :

Volet 1 : Organisation et fonctionnement des écosystèmes terrestres

Volet 2 : Vulnérabilité et adaptabilité des écosystèmes face aux changements globaux

Le volet 1 a pour objectif principal d'étudier les principes d'organisation de la biocénose et des échanges de matière assurant un stockage de carbone et un bouclage des cycles des nutriments durables. **Les hypothèses sont que 1) la biocénose tend vers la construction de systèmes autorégulés, 2) cette construction impose une spécialisation et une innovation fonctionnelle des organismes vivants signifiant que 3) les systèmes autorégulés dépendent de et favorisent la biodiversité fonctionnelle.** Les défis à relever sont :

- 1) de fournir des indicateurs de l'état de santé des écosystèmes (e.g. degré de synchronisation plantes-microorganismes) et des multiples fonctions rendues à l'Homme
- 2) d'identifier les niveaux de diversité et de complexité nécessaires à l'autorégulation des écosystèmes
- 3) contribuer à la conception de NSC multifonctionnels s'inspirant de l'organisation des écosystèmes naturels.

Le volet 2 a pour vocation de tester les limites de l'autorégulation des écosystèmes face aux perturbations exogènes (climat, gestion agricole) et d'en comprendre les rôles tampons.

Ce resserrement des activités de recherche de l'UMR autour de l'organisation fonctionnelle des écosystèmes permet de concentrer les efforts sur cette question originale.

Mon projet de recherche ne pourrait être mené sans l'appui de collaborateurs proches. Au sein de l'UREP je travaille au quotidien avec G.Alvarez (IR) qui collabore à la plupart des projets et mène les travaux sur la théorie de l'effet de la température, N.gross (CRCN) qui a été récemment recruté pour développer les NSC bio-inspirés et qui étudie les liens entre diversité fonctionnelle et la multifonctionnalité des écosystèmes, N.Vassal (MCF) consacre son temps de recherche sur la partie agronomique du projet NSC. Un recrutement de technicien de recherche par VetAgro Sup est prévu pour soutenir la mise en place et le suivi des expérimentations. S.Revaillot (TR) soutient nos activités de Laboratoire. A l'extérieur de l'UMR je travaille quasiment quotidiennement avec A.-C. Lehours sur

l'EXOMET et la caractérisation des communautés microbiennes des sols. Sur ces questions de recherche, j'ai le soutien technique A.-H. Lejeune (TR) et J.Colombet (IE).

2. Détails des actions de recherche envisagées

2.1 Mécanismes multiples de la synchronisation des échanges de matière microbes-plantes

2.1.1 Le mécanisme de banque

J'ai pour premier projet de rédiger un article synthétisant l'ensemble des travaux supportant l'existence du mécanisme de banque. L'effort de synthèse réalisé dans le cadre de cette HDR sera une bonne base pour la rédaction de cet article. Ce projet sera également l'occasion de valoriser des résultats sur le changement des communautés microbiennes induits par l'apport de nutriments minéraux dans des sols incubés avec du carbone frais. Ces résultats, acquis il y a plusieurs années grâce à la technologie des puces à ADN, supportent l'idée que le changement de régime de la « banque » (stockage *versus* déstockage) est associé à une modification de la structure des communautés de décomposeurs. Cet article explorera également les conséquences de ce mécanisme de banque pour la compréhension du fonctionnement des écosystèmes. Par exemple, le mécanisme de banque donne un sens biologique à la multifonctionnalité des écosystèmes laquelle est essentiellement vue jusqu'à présent comme l'ensemble des utilités pour l'Homme. Dans cette théorie, chaque fonction (minéralisation, immobilisation, exsudation etc) a un rôle essentiel pour le fonctionnement global du système et la suppression d'une fonction remet en cause sa pérennité. Par exemple, la dégradation de la fonction « immobilisation », en réponse à des pratiques agricoles défavorables aux groupes fonctionnels microbiens « I » (e.g. sol nu en hiver), conduit à une perte continue des matières organique des sols. Sur le long terme cette perte réduira drastiquement la production primaire et tous les autres organismes et fonctions de l'écosystème.

En parallèle, les recherches sur le mécanisme de banque seront menées sur la plateforme expérimentale de l'UREP. L'expérimentation comparant le fonctionnement de trois couverts (monoculture de blé, prairie, NSC blé+prairie) sera maintenue encore deux ans afin de conforter les tendances sur une durée totale de cinq ans. Ce maintien sera financé dans le cadre du projet NSC financé par l'APP CNRS-INRA MUTALIM.



Figure 70 Photographie de la plateforme expérimentale de l'UREP lors de son installation.

Au cours de ces deux ans, les échanges de CO₂ entre les couverts et l’atmosphère, les productions de fourrage et de blé, les lessivages de nitrates seront mesurés. Des prélèvements de sol seront réalisés à des dates où les activités photosynthétiques et donc la demande en nutriments des couverts seront contrastées. Les échantillons de sol seront analysés afin de caractériser l’offre du sol en mesurant les flux d’immobilisation-minéralisation comme précédemment. **L’objectif est de confirmer les relations GPP-deltaMI** supportant l’existence d’un mécanisme de banque dans la prairie et le NSC et pas dans la monoculture de blé.

En complément de la caractérisation de ces échanges de matière, la variation temporelle de la densité des communautés microbiennes totales, vivantes et sénescents sera caractérisée par une approche de cytométrie en flux. Les communautés microbiennes présentes seront caractérisées par l’analyse du polymorphisme des gènes codants pour les ARN ribosomiques 16S (bactéries) et 18S (champignons) après séquençage MiSeq (Illumina). Ces analyses permettront de caractériser les successions microbiennes associées aux changements de deltaMI en réponse à l’évolution de la demande en nutriments des plantes au cours des saisons. Enfin, une réflexion sera menée afin d’identifier des enzymes et des gènes spécifiques des processus de minéralisation et d’immobilisation d’azote. Cette connaissance permettra une caractérisation beaucoup plus fine des populations microbiennes impliquées dans les deux stratégies fonctionnelles I et M .

2.1.2 Les microorganismes symbiotiques (rhizobium, mycorhizes)

En complément au mécanisme de banque les microorganismes symbiotiques pourraient contribuer à la synchronisation offre/demande en nutriments. Les microorganismes symbiotiques sont impliqués dans un deal où ils fournissent des nutriments à la plante en échange de carbone organique énergétique provenant de la photosynthèse (Garcia et al., 2016). Par conséquent, l’activité des microorganismes symbiotiques et la fourniture en nutriments à la plante (OFFRE) pourrait dépendre de l’intensité photosynthétique des plantes (DEMANDE)(Courty et al., 2015; Nasto et al., 2019; Soussana and Hartwig, 1995)(Figure 71).

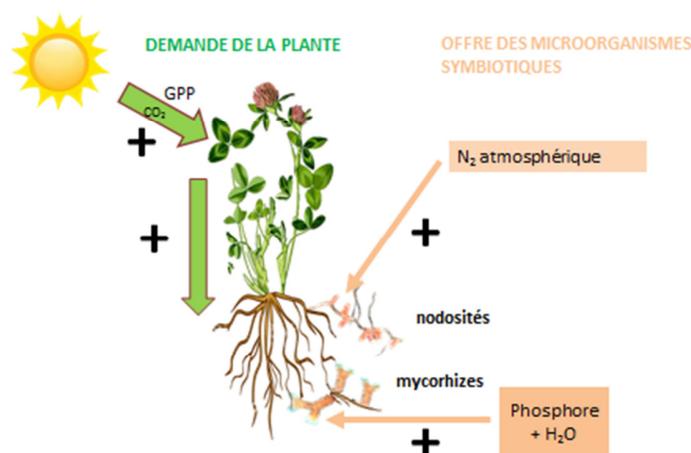


Figure 71 Contribution des microorganismes symbiotiques à la synchronisation entre demande en nutriments (N, P, eau) de la plante et offre microbienne. En échange de carbone organique, les bactéries

Rhizobium des nodosités des légumineuses fixent l'azote atmosphérique et transfert cet azote à la plante. Les champignons assimilent du phosphore et de l'eau pour la plante. Une augmentation de la photosynthèse (DEMANDE) pourrait accroître le carbone alloué aux microorganismes symbiotiques stimulant leur fixation symbiotique d'azote atmosphérique et l'assimilation du phosphore et l'eau du sol (OFFRE).

L'existence de plusieurs mécanismes d'ajustement offre/demande pourrait apporter une certaine flexibilité aux plantes dans leur nécessité de satisfaire leurs contraintes stœchiométriques. En prélevant des nutriments minéraux dans la solution du sol les plantes enclenchent le fonctionnement de banque conduisant à une libération d'une multitude de nutriments dans des proportions qu'elles ne contrôlent pas puisque ces nutriments sont libérés par les décomposeurs des matières organiques des sols. Par rapport aux besoins de la plante, certains nutriments peuvent se retrouver en excès ou en insuffisance. Ces déséquilibres nutritionnels peuvent être corrigés en actionnant le levier des symbioses. Par exemple, une insuffisance d'azote peut être compensée par une allocation carbone plus importante aux nodosités. Des résultats déjà disponibles dans la littérature supportent l'existence de ce type d'ajustement DEMANDE-OFFRE1-OFFRE2. En effet, il a été montré que la fertilisation azotée réduit la fixation symbiotique chez les légumineuses (Guinet et al., 2018). Ainsi le niveau de fixation symbiotique d'azote ne dépend pas uniquement de l'activité photosynthétique des plantes mais aussi de la disponibilité en azote minéral dans la solution du sol. A l'échelle du couvert végétal, l'adaptation des communautés végétales et de leurs traits aux ressources du milieu peut contribuer à l'ajustement offre-demande. Par exemple, il a été démontré dans des prairies permanentes une oscillation au cours du temps entre les graminées et les légumineuses découlant de limitations successives en phosphore et azote disponibles (Loiseau et al., 2001).

Un article « Idées et perspectives » est prévu sur ces mécanismes multiples de la synchronisation offre/demande. Au-delà de la présentation des mécanismes et de leur couplage, l'article pourra discuter des mécanismes par lesquelles la sélection naturelle favorise une organisation de la biocénose autour de système manipulant l'environnement physique dans le but de rendre les conditions de croissance (et de reproduction) de la biocénose plus optimales et durables. Il sera également exploré les implications du mécanisme de banque pour la théorie Gaia qui suggère que le système biosphère-climat dispose de mécanismes d'autorégulation tendant à maintenir des conditions favorables à la vie. Par exemple, l'emballement du réchauffement climatique lié à une possible accélération de la minéralisation des matières organiques du sol en réponse à la hausse des températures pourrait être limité/annulé par le mécanisme de banque (voir section 2.4.3). Selon la richesse des résultats produits par ces investigations, il est possible que deux articles soient rédigés.

La contribution des microorganismes symbiotiques à la synchronisation offre/demande sera également explorée sur la plateforme expérimentale. La réponse des populations des microorganismes symbiotiques aux fluctuations de la photosynthèse des végétaux (DEMANDE) sera quantifiée l'analyse du polymorphisme des gènes codants pour les ARN ribosomiques 16S (bactéries) et 18S (champignons) après séquençage MiSeq (Illumina). L'activité de fixation symbiotique sera plus précisément déterminée en réalisant des PCR quantitatives du gène *nifH* codant pour l'enzyme réduisant le N_2 en NH_3 .

2.1.3 Rôle du climat, de la diversité et des stratégies des espèces végétales sur les types de mécanismes de synchronisation sol-plante

Il se dégage de mes travaux l'idée que la synchronisation offre/demande est un principe vers lesquels tendent tous les écosystèmes terrestres. Cependant, les mécanismes sollicités dans cette synchronisation offre-demande pourraient fortement varier selon les conditions pédoclimatiques et les espèces végétales. La comparaison des trois couverts étudiés sur la plateforme a montré l'importance du mécanisme de banque pour la synchronisation offre-demande et le maintien d'une photosynthèse et des rhizodépôts tout au long de l'année. Il est très probable que ces mécanismes ne soient pas applicables dans le cas des écosystèmes où la photosynthèse est stoppée par des conditions extrêmes à certaines périodes de l'année. Cela pourrait être le cas des prairies des alpages couvertes par la neige ou des écosystèmes arides où l'eau manque pendant plusieurs mois de l'année. Dans ce cas d'autres mécanismes pourraient être déployés afin d'éviter des pertes de nutriments : constitution de réserves de nutriments dans la plante, alimentation des microorganismes avec les sucres lents de leurs litières (Henneron et al., 2017) et utilisation des ectomycorhizes afin de dégrader l'azote organique du sol (Trap et al., 2017). Dans la même idée, en conditions tropicales humides, le mécanisme de banque semble ne pas être suffisant pour éviter les pertes de nutriments puisque des plantes ont développé d'autres stratégies comme l'inhibition de la nitrification (Boudsocq et al., 2009, 2012; Lata et al., 2004; Srikanthasamy et al., 2018).

L'universalité de la synchronisation offre/demande et les mécanismes impliqués dans cette synchronisation seront étudiés dans le cadre du projet EcoPrince soumis à l'appel à projet H2020 (Figure 72)(Coordinateurs Yoann Pinguet & Nicolas Gross). L'objectif général du projet est de comprendre les interrelations entre le changement climatique, la biodiversité et les services écosystémiques. Ce projet repose sur un réseau international avec une représentation des écosystèmes allant du cercle polaire à la méditerranée.

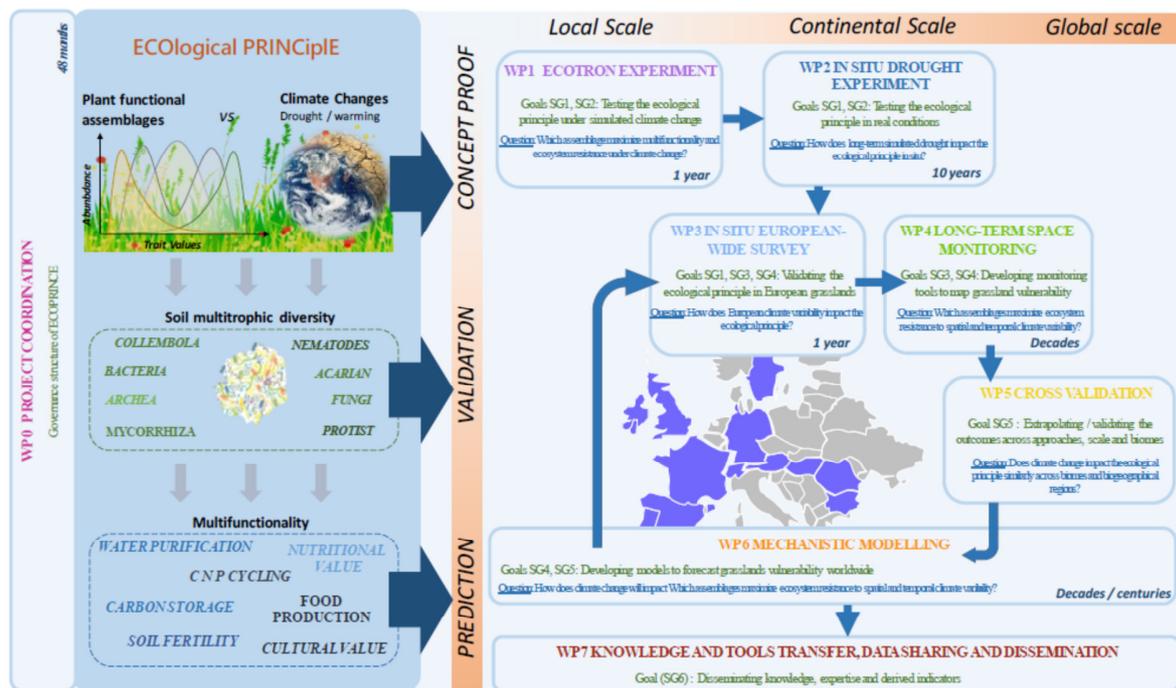


Figure 72 Cadre de travail du projet EcoPrince.

Dans ce cadre général, le degré de synchronisation offre-demande sera déterminé sur un échantillon représentatif d'écosystèmes en utilisant une version « dégradée » de la méthode mise au point sur la plateforme expérimentale (estimation de la photosynthèse et du delta MI). Comme le montre mon travail la synchronisation offre-demande contrôle de nombreux services écosystémiques adossés aux cycles biogéochimiques. En parallèle, la diversité et les traits des plantes, des microorganismes et de la faune du sol ainsi que des indices empiriques de la multifonctionnalité des écosystèmes seront mesurés. Ainsi, au de-là de la question de l'universalité de la synchronisation offre-demande, les investigations dans le cadre d'EcoPrince permettront de comprendre comment s'organisent les échanges de matière au sein de la biocénose selon le type de climat, de sol et de fluctuations (e.g. saisons). Cette compréhension servira à identifier les grands types de stratégie (éco)systémique développés par la biocénose afin synchroniser l'offre à la demande dans un environnement fluctuant. Elle permettra également d'avoir une représentation holistique du rôle de la biodiversité dans le fonctionnement et la durabilité des écosystèmes. Enfin, cette compréhension contribuera à une vision beaucoup plus mécaniste de la « multifonctionnalité » des écosystèmes laquelle est souvent réduite à une liste de fonctions contribuant à des services pour l'Homme. Ainsi, il sera possible de fournir des indices de multifonctionnalité beaucoup plus pertinents reflétant l'état de santé des écosystèmes.

Jusqu'à présent (projet EcoPrince) le fonctionnement des écosystèmes est étudié dans un état d'équilibre ou de pseudo-équilibre c'est à dire que la biocénose est exposée aux mêmes conditions pédoclimatiques depuis des millénaires. Hors les écosystèmes sont progressivement exposés à de nouvelles conditions climatiques, un changement climatique comprenant des extrêmes climatiques dont la fréquence et l'intensité vont s'accroître dans les dizaines d'années à venir. La biodiversité, le fonctionnement de la biocénose et donc les flux de matière sont fortement affectés par le changement

climatique. Quel sera l'impact du changement climatique sur la synchronisation offre-demande? Quelles conséquences pour la durabilité des écosystèmes et les services qu'ils fourniront dans les années à venir ? Ces questions seront étudiées grâce à des collaborations en interne (scientifiques du volet 2 de l'UREP) et en externe au travers du réseau international « drought net » où des prairies sont exposées à des périodes de sécheresse. L'insertion dans ce réseau a l'avantage d'accéder à un grand nombre d'expérimentations déjà en place où de nombreuses variables biotiques, abiotiques et fonctionnelles sont mesurées. Mes hypothèses sont que 1) la sécheresse peut induire à une perte de synchronisation offre-demande conduisant à des pertes de nutriments, à un appauvrissement des sols et à une diminution de la productivité primaire sur le long-terme et 2) les effets délétères de la sécheresse sur la synchronisation offre-demande sont plus ou moins importants selon le type de mécanismes développés par la biocénose pour permettre cette synchronisation. Pour tester ces hypothèses, il s'agira de mesurer sur les différents écosystèmes 1) l'impact de la sécheresse sur le degré de synchronisation offre-demande et d'estimer la vitesse de récupération de cette synchronisation (résilience) et 2) de faire le lien entre ces différents degrés de synchronisation avec les performances des écosystèmes (productivité primaire, rétention des nutriments, stockage de matières organiques du sol...).

2.2 Conception de nouveaux systèmes de culture (NSC)

2.2.1 Concept

La conversion des écosystèmes pérennes en culture est la première cause de réduction de la biodiversité et contribue pour moitié aux émissions de gaz à effet de serre. De plus, les systèmes agricoles se sont fortement spécialisés au cours de ces 50 dernières années, afin de répondre à des objectifs de compétitivité des filières. La diversité des espèces cultivées dans les assolements s'est fortement réduite, les successions culturales ont été simplifiées et les sols restent sans couvert végétal une partie de l'année (Jackson, 2002; Vigouroux et al., 2011). La biomasse des organismes du sol est réduite et les communautés microbiennes sont modifiées avec la diminution notable des champignons (Bardgett et al., 2005; Lynch and Panting, 1980; Recous et al., 1996). Ces modifications de l'écosystème sol ont des conséquences désastreuses. La mise en culture des sols engendre une diminution continue des stocks de matières organiques du sol (MOS) jusqu'à des niveaux qui deviennent critiques vis à vis de leur stabilité physique et de leur exploitation (Le Bissonnais and Arrouays, 1997). Cet appauvrissement des sols s'accompagne d'une perte de leur fertilité, conduisant à une utilisation massive d'engrais chimiques dans les pays développés et à la colonisation de nouvelles surfaces dans les pays en voie de développement.

De nouvelles techniques culturales visant une meilleure préservation des sols se développent ces dernières années en France comme à l'étranger. Ces pratiques incluent les pratiques de non travail du sol, les cultures intermédiaires et intercalaires de légumineuses ou non, l'agriculture de conservation combinant plusieurs de ces approches. L'éventail de ces nouvelles techniques est large et les résultats ne sont pas toujours ceux attendus. Par exemple, il a été montré que le non travail du sol pendant 20 ans n'avait aucun impact sur les stocks de MOS des sols (Dimassi et al., 2014). Un des verrous au développement de ces nouveaux systèmes de culture est le manque de connaissances scientifiques sur les régulations biologiques des cycles carbone (C), azote (N) et phosphore (P) des sols.

Dans ce contexte, les avancées récentes sur la compréhension de l'organisation de la biocénose et des échanges de la matière au sein des écosystèmes naturels constituent une source d'inspiration formidable pour la construction de nouveaux systèmes de culture (NSC) permettant une production durable de grains. Comme le suggère mon travail, les écosystèmes renferment une multitude de mécanismes contribuant à la synchronisation offre-demande que les monocultures actuelles semblent avoir perdues. Cette absence de synchronisation explique les piètres performances environnementales des sols cultivés : dépendance à la fertilisation azotée, pertes de nutriments par lessivage et dénitrification, perte de matières organiques des sols, érosion des sols... Cependant, mon travail suggère aussi que ce type de système n'est pas une fatalité et qu'une synchronisation offre-demande peut être rétablie en réalisant des associations végétales particulières. Par exemple, les résultats de la plateforme expérimentale montrent une synchronisation rétablie avec l'implantation d'un blé dans un couvert végétale composé d'une graminée et d'une légumineuse pérennes. Les performances de ce NSC sont exceptionnelles comparé à la culture de blé « conventionnelle » : deux fois plus de biomasse aérienne produite, une production de grains équivalente à la culture conventionnelle, arrêt des pertes de nutriments, fixation symbiotique d'azote (Table 7).

Assemblages	Fertilisation azotée kg N/ha ⁻¹ an ⁻¹	Prairie		Prairie + Blé		Blé	
		40	200	40	200	40	200
Rendement année 2018							
Total	t DM/ha ⁻¹ an ⁻¹	ab 26.40 (1.74)	ab 27.56 (0.70)	b 23.01 (0.55)	a 30.59 (1.13)	d 11.12 (0.44)	d 15.44 (1.20)
Fourrage	t DM/ha ⁻¹ an ⁻¹	a 26.40 (1.74)	a 27.56 (0.70)	b 15.22 (0.85)	b 13.68 (0.97)	x	x
Paille + grain	t DM/ha ⁻¹ an ⁻¹	x	X	c 7.79 (0.38)	a 16.91 (0.22)	b 11.12 (0.44)	a 15.44 (1.20)
Grain	quintaux DM/ha ⁻¹ an ⁻¹	x	X	b 40.07 (2.20)	a 85.37 (2.83)	b 50.41 (2.20)	a 76.52 (5.65)

Table 7 Production de fourrage et de grains de blé par une prairie, une monoculture de blé et un nouveau système de culture où le blé est implanté dans un couvert associant une graminée et une légumineuse pérenne. Résultats obtenus dans le cadre de l'expérimentation mise en place sur la plateforme de l'UREP (Cros, 2019).

Ces résultats confortent l'idée qu'une intensification écologique de la production agricole est potentiellement possible. Cependant, ces résultats préliminaires ne doivent pas cacher les nombreux problèmes qui devront être résolus pour rendre possible un transfert de ce genre de pratiques sur le terrain.

2.2.2 Origines de l'absence de synchronisation offre-demande

Un des premiers verrous de développement des NSC reste le manque de connaissances sur les origines du manque de synchronisation offre-demande dans les systèmes de culture actuels. Mon travail lors de la période précédente a montré l'absence du mécanisme de banque contribuant à la synchronisation offre-demande dans une monoculture de blé. Cette absence de mécanisme de banque est-elle universelle à toutes les cultures annuelles ? Découle-t-elle de propriétés spécifiques des plantes cultivées par rapport aux plantes sauvages résultant d'une sélection par l'Homme ? Où est-ce un dysfonctionnement systémique lié à une très faible diversité fonctionnelle dans les systèmes de cultures actuels ? Si la biodiversité est essentielle, quel niveau de diversité et de complexité (différents types de mécanismes de synchronisation offre-demande) est nécessaire pour rétablir une synchronisation offre-demande ? De plus, mes précédentes travaux montraient la possibilité de rétablir un mécanisme de banque en associant la culture de blé à un couvert de plantes pérennes alimentant en carbone énergétique les microorganismes du sol tout au long de l'année. La présence des plantes pérennes est-elle essentielle ou est-il possible de rétablir la synchronisation par d'autres moyens comme les rotations culturales maintenant un couvert végétal permanent ?

Nous comprenons bien que ces questions se posent également pour le fonctionnement des écosystèmes naturels. Cela souligne tout l'intérêt de mener conjointement des recherches sur les écosystèmes naturels ou peu perturbés comme les prairies permanentes, et sur des agrosystèmes beaucoup plus influencés par l'action de l'Homme. Cela signifie que les recherches sur les mécanismes multiples de synchronisation offre-demande réalisées sur les écosystèmes naturels dans le cadre EcoPrince alimenteront les recherches effectuées sur les NSC dans le cadre du projet NSC et autres futurs projets.

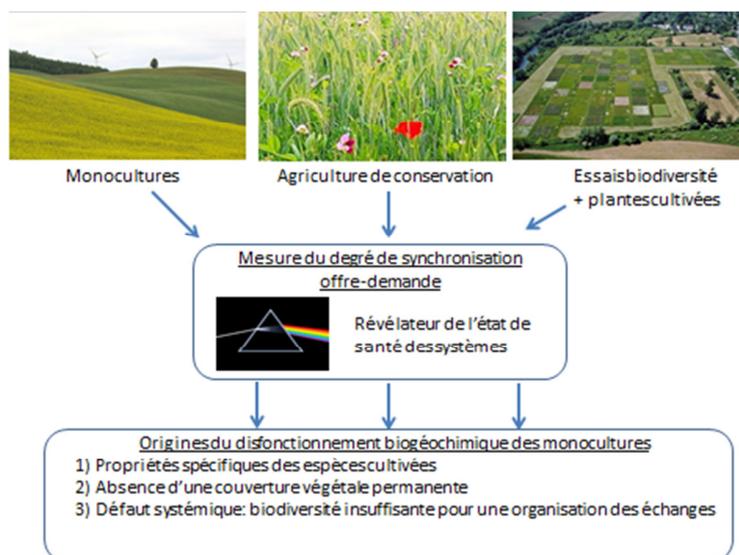


Figure 73 Approche proposée pour comprendre les origines de l'absence de synchronisation offre-demande responsable des dysfonctionnements biogéochimiques des monocultures (Perte de matières organiques des sols, lessivages de nutriments, dépendance à la fertilisation azotée...).

En plus de ce qui a été décrit pour EcoPrince, je prévois d'analyser le degré de synchronisation offre-demande dans 1) des monocultures de plantes cultivées impliquées ou non dans des rotations favorisant un couvert général permanent, 2) des monocultures de plantes extraites de milieux naturels comprenant des annuelles et pérennes 3) des écosystèmes de niveaux de complexité et de diversité croissante dans lesquels des plantes cultivées pourront être implantées (Figure 73). Le point (1) permettra de tester la généralité de l'absence de la banque de nutriments dans les monocultures actuels, et d'explorer le potentiel des rotations culturales à maintenir un couvert végétal permanent propice aux mécanismes de synchronisation offre-demande. Le point (2) investiguera le rôle des groupes fonctionnels et des traits des espèces végétales dans la synchronisation offre-demande. Enfin, le point (3) se consacrera à définir le niveau de diversité et de complexité fonctionnelle nécessaire en fonction des objectifs de synchronisation offre-demande fixés. Afin de rendre ce projet réalisable, il est envisagé de s'appuyer sur des dispositifs existants comme les champs cultivés et dans les grands essais de biodiversité comme celui du Max Planck Institute de Jena.

2.2.3 Créer des associations stables permettant le succès de la culture de rente

Les recherches présentées ci-dessus révéleront les grands principes d'organisation de la biocénose et des échanges de matière à respecter afin d'éco-concevoir des NSC avec une forte synchronisation offre-demande. Néanmoins il subsiste un problème majeur qui est celui de la coexistence des plantes cultivées et du couvert végétal permanent. Dans notre expérimentation où un premier NSC était testé, le succès du blé a été garanti grâce à des interventions régulières au moment de son implantation afin de couper les plantes pérennes. Ces coupes réalisées à la main a permis de limiter la compétition exercée par les plantes pérennes sur les nutriments et la lumière vis-à-vis d'un blé qui semblait peu compétitif dans ces conditions. Comment passer d'un système à petite échelle directement contrôlé par la main de l'Homme à des surfaces de plusieurs dizaines ou centaines d'hectares représentant les échelles économiquement viables pour les agriculteurs. Pour des raisons évidentes de santé globale (Homme et écosystème), l'usage de désherbants sélectif ne peut pas être une solution à ce problème, même si on pourrait l'envisager de manière très ponctuelle en cas de « ratés ». Les deux autres leviers d'actions que j'identifie sont l'écologie et la mécanisation. Les espèces végétales s'assemblent selon des règles en partie connues (principe d'exclusion compétitive, complémentarité de niches, facilitation). Par l'analyse des stratégies adaptatives et des traits des espèces cultivées et naturelles, il est donc possible de tester des mélanges favorisant le succès de la culture de rentes. Par exemple, le développement des plantes cultivées à croissance rapide pourraient être favorisé par un couvert composé de plantes à croissance lente et fixatrices d'azote. Ces mélanges devront être raisonnés en prenant en compte la possibilité de perturber le milieu lors de l'implantation de la culture (coupes de l'herbe, travail du sol finement localisé sur le rang de semis). Cette gestion du couvert pourra se faire par une mécanisation ou l'utilisation d'herbivores contribuant par la même occasion à la fertilisation des sols. Je ne développerai pas plus cette partie dans le cadre de mon HDR car elle sera prise en charge par mes collaborateurs de l'UREP spécialistes de l'écologie des communautés végétales, notamment Nicolas Gros qui vient d'être recruté sur ce sujet à l'UREP. Une collaboration avec Sébastien Barot de l'IEES de Sorbonnes Universités et Cyrille Viole du CEFV de Montpellier est prévue à ce sujet.

2.3 Progresser sur la compréhension de l'EXOMET et ses applications biotechnologiques

Les recherches sur l'EXOMET sont actuellement poursuivies grâce à l'appui technique d'un technicien et d'un ingénieur d'étude de notre partenaire universitaire LMGE, d'un ingénieur de recherche de la plateforme métabolique de l'Institut de Chimie et du financement de deux projets.

2.3.1 Quantification isotopique de l'EXOMET

La découverte d'une différence de fractionnement isotopique du carbone entre l'EXOMET et la respiration cellulaire ouvre la perspective d'une véritable méthode de quantification de ces deux voies de respiration applicable sur du sol non stérilisé. Pour cette quantification, il est nécessaire de déterminer les pentes des droites reliant le fractionnement isotopique de l'une ou l'autre des voies de respiration à la concentration en carbone organique soluble (le fractionnement dépend en effet de la concentration du substrat). Une première droite a été fournie pour l'EXOMET dans la publication de (Kéral et al., 2016)(Figure 36). Une droite similaire doit être construite pour la respiration cellulaire induite par des microorganismes des sols. Grâce à ces droites, la composition isotopique exacte du CO₂ libéré par l'une ou l'autre des deux voies de respiration pourra être connue pour chaque concentration de carbone organique soluble dans le sol. La quantification des deux voies de respiration devient alors possible en mesurant la quantité de CO₂ et sa composition isotopique ($\delta^{13}\text{C}$) libéré par le sol. Cette quantification se base sur les équations suivantes :

$$R_{\text{soil}} = R_{\text{cell}} + R_{\text{EXOMET}} \quad (3)$$

$$\delta^{13}\text{C-CO}_{2\text{soil}} \times R_{\text{soil}} = \delta^{13}\text{C-CO}_{2\text{cell}} \times R_{\text{cell}} + \delta^{13}\text{C-CO}_{2\text{EXOMET}} \times R_{\text{EXOMET}} \quad (4)$$

où R_{soil} et $\delta^{13}\text{C-CO}_{2\text{soil}}$ sont respectivement la quantité de CO₂ émise par le sol ($\mu\text{g C-CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ soil}$) et sa composition isotopique ($\text{‰ } \delta^{13}\text{C}$), R_{cell} et R_{EXOMET} sont respectivement la respiration cellulaire et non-cellulaire, $\delta^{13}\text{C-CO}_{2\text{cell}}$ et $\delta^{13}\text{C-CO}_{2\text{EXOMET}}$ sont respectivement la composition isotopique du CO₂ libéré par la respiration cellulaire et non-cellulaire. R_{soil} et $\delta^{13}\text{C-CO}_{2\text{soil}}$ sont obtenus par analyse du CO₂ tandis que $\delta^{13}\text{C-CO}_{2\text{cell}}$ et $\delta^{13}\text{C-CO}_{2\text{EXOMET}}$ ont été préalablement déterminés. Ainsi les deux inconnues R_{cell} et R_{EXOMET} peuvent être déterminées en résolvant ce système à deux équations.

Cette méthode de quantification va fortement stimuler les avancées scientifiques dans ce domaine puisqu'il va devenir possible de quantifier précisément l'impact des facteurs environnementaux sur ces deux voies de respiration et les interactions entre elles. Elle peut également aider à populariser cette nouvelle voie de respiration des sols au sein de la communauté scientifique en proposant une méthode simple de quantification et libre de tout problème d'artefacts. Concernant les facteurs environnementaux, j'envisage d'étudier en priorité l'impact de la disponibilité en eau car les microorganismes et les catalyseurs de l'EXOMET pourraient avoir des besoins en eau très différents. De plus, l'EXOMET pourrait contribuer à un dysfonctionnement de la synchronisation offre-demande en période de sécheresse (voir section 2.3.3).

2.3.2 Identification des voies métaboliques et des catalyseurs impliqués

Si des progrès importants ont été réalisés pour démontrer et quantifier l'EXOMET ces dernières années, nos connaissances sur les métabolismes et les catalyseurs impliqués restent très limitées. Il a peut être montré que, suite à une lyse cellulaire, les métabolismes respiratoires des cellules peuvent se produire de manière spontanée à l'extérieure des cellules. Nous avons pu même démontrer le rôle des particules de sol sur la stabilisation des enzymes de la respiration. Cependant, le sol contient une grande quantité de catalyseurs minéraux comme les métaux et les argiles qui peuvent également intervenir dans les réactions chimiques. De plus, la respiration non cellulaire est extrêmement persistante (plusieurs années à dizaines d'années) comparé à la durée de vie des enzymes (quelques jours à quelques mois). Par conséquent, il est fort probable que l'EXOMET implique des catalyseurs et des réactions chimiques autres que ceux rencontrés dans les cellules où les régulations jouent également un rôle très important sur le cours et le sens des réactions chimiques. Afin d'explorer ces questions, un projet impliquant la plateforme métabolique de l'Université Clermont Auvergne, le LMGE et l'UREP est en cours. Les métabolites générés par l'EXOMET sont analysés par RMN liquide et chromatographie liquide couplée à de la spectrométrie de masse. Des ajouts de substrats marqués au ^{13}C sont également réalisés afin d'analyser la prise en charge des substrats carbonés du sol et leur progressive transformations en composés intermédiaires conduisant au final à une oxydation complète du carbone. Ces investigations devraient aboutir à meilleure compréhension des principales voies métaboliques responsables de l'EXOMET. Une fois ce travail effectué, les recherches se poursuivront vers une identification des catalyseurs impliqués dans l'EXOMET. Grâce à la connaissance des réactions chimiques de l'EXOMET, il devient possible de localiser dans le sol les réactions de l'EXOMET en apportant des substrats libérant des marqueurs moléculaires au cours de leur transformation chimique. Certains marqueurs sont observables en microscopie électronique assurant une détection sensible et fine des réactions chimiques dans le sol. Couplée à de la spectroscopie à rayons X à dispersion d'énergie ces observations révéleront la composition élémentaire des catalyseurs présents. De cette façon il sera possible de déterminer si les catalyseurs sont plutôt de type minéral, métallique ou organique. Deux équipes de recherche avec du matériel microscopique complémentaire (LMGE et Université de la Frontera au Chili) sont impliquées dans ce projet.

2.3.3 Intégration de l'EXOMET dans le modèle biogéochimique *Symphony*

Même si la compréhension des mécanismes de l'EXOMET reste très limitée il est déjà possible d'intégrer de manière « empirique » l'EXOMET dans un modèle de flux de matière en utilisant les données générées par les expérimentations passées. L'EXOMET joue certainement un rôle dans les flux de matière des écosystèmes. Il est possible de comprendre ce rôle en comparant les prédictions de modèles avec ou sans l'EXOMET. J'ai donc pour projet d'intégrer un premier modèle d'EXOMET dans le modèle *Symphony* et d'en analyser les conséquences pour le fonctionnement de l'écosystème, en particulier pour le mécanisme de banque. L'EXOMET est une minéralisation continue des matières organiques des sols au contact des particules du sol libérant des quantités importantes de CO_2 et de nutriments minéraux. Contrairement à la minéralisation microbienne, l'EXOMET ne fait pas l'objet de régulation en fonction des besoins en nutriments des végétaux. Cela suggère que l'EXOMET pourrait venir perturber le mécanisme de banque et les fonctions cruciales des écosystèmes, en particulier lorsque les activités

microbiennes sont fortement réduites et les besoins en nutriments des plants sont faibles ou nuls. Par exemple, dans les sols cultivés où les activités végétales et microbiennes sont nulles ou fortement réduites à certaines périodes de l'année, l'EXOMET pourrait contribuer au défaut de synchronisation offre-demande en maintenant une minéralisation des matières organiques du sol. De la même manière, l'EXOMET pourrait conduire à une désynchronisation offre-demande pendant les périodes de sécheresse où la demande en nutriments des plantes est nulle.

2.3.4 Intensifier l'EXOMET par la concentration des catalyseurs et substrats afin d'augmenter la puissance des biobatteries

Les recherches spécifiques sur les biobatteries seront gelées dans les années à venir faute de temps. Cependant, les investigations prévues sur l'EXOMET continueront à nourrir ce projet. En particulier, les investigations sur les catalyseurs et leur localisation dans le sol renseigneront sur les possibilités de concentrer ces catalyseurs afin d'accroître la puissance des biobatteries. Quant à l'analyse des voies métaboliques elles informeront sur les types de substrats les plus efficaces pour stimuler l'EXOMET et donc la production d'électricité. L'objectif est d'augmenter la densité de puissance des biobatteries d'au moins un facteur 10 afin d'atteindre le seuil de 1 W m^{-2} ouvrant à des applications.

2.4 Développer une nouvelle vision de l'effet du réchauffement sur les processus biocatalysés et les organismes

La publication sur la théorie alternative de la réponse des activités enzymatiques à la température constitue une base solide pour progresser sur la compréhension de l'effet du réchauffement sur les échanges de matière des écosystèmes. Les prédictions du modèle sont que 1) le pouvoir catalytique des enzymes (E_{power}) diminue avec la température, 2) la vitesse des processus biocatalysés tels que la minéralisation des matières organiques du sol peuvent augmenter ou diminuer selon la sensibilité relative du E_{power} et de la production d'enzymes et 3) à même niveau de production d'enzymes, la température devrait ralentir la vitesse des processus biocatalysés. Une série d'études est prévue afin de tester ces prédictions. Ces travaux sont principalement menés par mon collègue Gaël Alvarez avec qui je collabore.

2.4.1 Test de la théorie dans des réacteurs enzymatiques

La diminution du E_{power} des enzymes avec la température peut être testée par deux approches complémentaires. Tout d'abord les énergies d'activation des deux processus déterminants la réponse du E_{power} à la température, EA_{inact} et EA_{cat} , peuvent être mesurées dans des essais au Laboratoire. Comme le montre la synthèse bibliographique et les premières mesures que nous avons réalisées, une série de données est déjà disponible. Cependant, ce travail descriptif doit être poursuivi sur d'autres enzymes afin de conforter l'universalité du patron $EA_{\text{inact}} > EA_{\text{cat}}$ responsable de la réponse négative du E_{power} à la température. Ensuite, le E_{power} et sa réponse à la température peuvent être directement mesurés dans des réacteurs enzymatiques. Pour cela, il sera mis en place des incubations à différentes températures de réacteurs où des apports continus d'enzymes seront réalisés à l'aide d'une pompe péristaltique et de solutions d'enzymes pures (Figure 74).

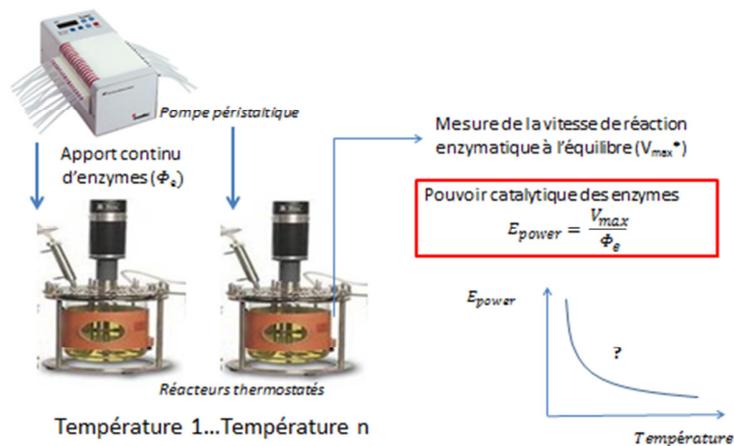


Figure 74 Test en bioréacteurs de la prédiction de la théorie d'une diminution du pouvoir catalytique des enzymes (E_{power}) à la température. Au début de l'expérimentation, la concentration en enzymes dans les réacteurs augmentera avec les apports continus. Ensuite l'inactivation thermique continue des enzymes compensera petit à petit les apports signifiant que le pool d'enzymes atteindra un équilibre. La vitesse des réactions à cet équilibre (V_{max}^*) permet de calculer le E_{power} . Ainsi la prédiction d'une relation exponentielle négative entre E_{power} et la température pourra être testée.

2.4.2 Pertinence de la théorie pour prédire la réponse de la respiration des sols à la température

Le passage de la théorie centrée sur les propriétés thermodynamiques des enzymes à des processus biocatalysés se produisant dans la nature implique un changement d'échelle de complexité. Dans le sol, la réponse à la température de la minéralisation des matières organiques dépend d'un grand nombre de processus autres que ceux étudiés dans la théorie : processus d'inactivation non thermiques (e.g. activité protéolytique), changements du métabolisme des microorganismes et de la structure des communautés microbiennes du sol en réponse à la température, interactions avec les autres organismes, en particulier les plantes. Ces processus peuvent conduire à une réponse à la température de la minéralisation différente de celle attendue selon la théorie. De plus, certains de ces processus doivent être pris en compte (e.g. interactions avec les plantes) afin de correctement tester la théorie. Je décris ci-dessous les actions envisagées afin de tester la pertinence de cette nouvelle théorie pour décrire la réponse de la minéralisation des matières organiques du sol à la température.

2.4.2.a Caractéristiques thermodynamiques des enzymes du sol

Une fois libérée par les microorganismes du sol les enzymes extracellulaires interagissent avec de nombreux facteurs du sol comme les minéraux, les matières organiques, les protéases ou des facteurs plus globaux comme le pH et la teneur en eau. Ces interactions modifient l'activité catalytique des enzymes et peuvent endommager leur structure tridimensionnelle conduisant à la perte plus ou moins irréversible de leur activité. Il est donc nécessaire de vérifier si la tendance générale $E_{inact} > E_{cat}$ observée pour des enzymes en solution pure tient pour des enzymes dans le sol. Afin de réaliser cette vérification, un large panel de sols sera prélevé. La stratégie prévue pour le prélèvement consiste à collectionner des sols de milieux thermodynamiques très contrastés afin de 1) garantir le caractère universel des résultats et 2) explorer comment l'adaptation des microorganismes à leur environnement

thermique modifient les traits enzymatiques, en particulier $E_{A_{inact}}$, $E_{A_{cat}}$ et le E_{power} . Ce projet est financé par l'agence nationale de la recherche du Chili dans le cadre d'un projet collaboratif UREP-Université de la Frontera. Ainsi des sols seront prélevés dans des écosystèmes proches de l'océan Pacifique le long d'un large gradient latitudinal de température allant de l'équateur au cercle polaire du sud du Chili. La présence de l'océan tamponne les variations de température signifiant que ce prélèvement nous permet de regarder l'effet de la température moyenne sur les enzymes des microorganismes. En parallèle, des échantillons de sol seront prélevés le long d'un gradient d'altitude allant du bord du Pacifique au désert d'Atacama où les variations diurnes de température peuvent atteindre 45°C. Les sols seront stérilisés afin d'analyser spécifiquement les propriétés thermodynamiques des enzymes présentes dans les sols et de s'affranchir des réponses des communautés microbiennes à des variations expérimentales de la température. Mis à part cette stérilisation, les activités catalytiques et l'inactivation des enzymes seront estimées *via* des incubations de sols à différentes températures et avec ajout de substrats. La respiration non-cellulaire sera également mesurée afin de caractériser les propriétés thermodynamiques de cette voie de respiration.

2.4.2.b Test de la théorie via une ré-analyse globale des flux de carbone des écosystèmes

Une manière directe de tester la pertinence de la théorie pour prévoir la réponse de la minéralisation microbienne à la température est de confronter le modèle à des mesures de flux de respiration des sols dans des écosystèmes exposés à différentes températures sur le long terme. La respiration du sol n'est pas toujours mesurée dans les écosystèmes mais elle peut être déduite des mesures des échanges de CO₂ entre l'écosystème et l'atmosphère réalisées de manière routinière sur de nombreux sites dans le monde (e.g. ICOS). Ces différents sites comprennent des écosystèmes le long de gradients latitudinaux de température et des écosystèmes soumis à des réchauffements dans le cadre d'expérimentations. Par conséquent, il est possible d'étudier *in situ* la réponse de la minéralisation des matières organiques du sol à la température dans des systèmes en équilibre avec leur environnement thermique ou en transition suite à un réchauffement.

Cependant, contrairement à ce qui a été fait jusqu'à présent, il y a une précaution à prendre afin d'analyser correctement l'impact de la température sur la respiration des sols. Le long de ces gradients latitudinaux de température, les écosystèmes sont non seulement soumis à différentes températures mais aussi à différents niveaux de rayonnement, de précipitations...facteurs qui contrôlent la photosynthèse des végétaux. Ainsi les flux de carbone énergétique vers les microorganismes (dépôts de litières et rhizodepositions) varient entre les écosystèmes stimulant plus ou moins les activités microbiennes. Le « fuelling effect » de ce carbone énergétique doit être pris en compte pour analyser l'effet de la température sur la décomposition enzymatique du C organique des sols. Il va en effet intensifier la respiration des sols du fait de la consommation de ce carbone énergétique par les microorganismes et du rhizosphère priming effect induit (Figure 75).

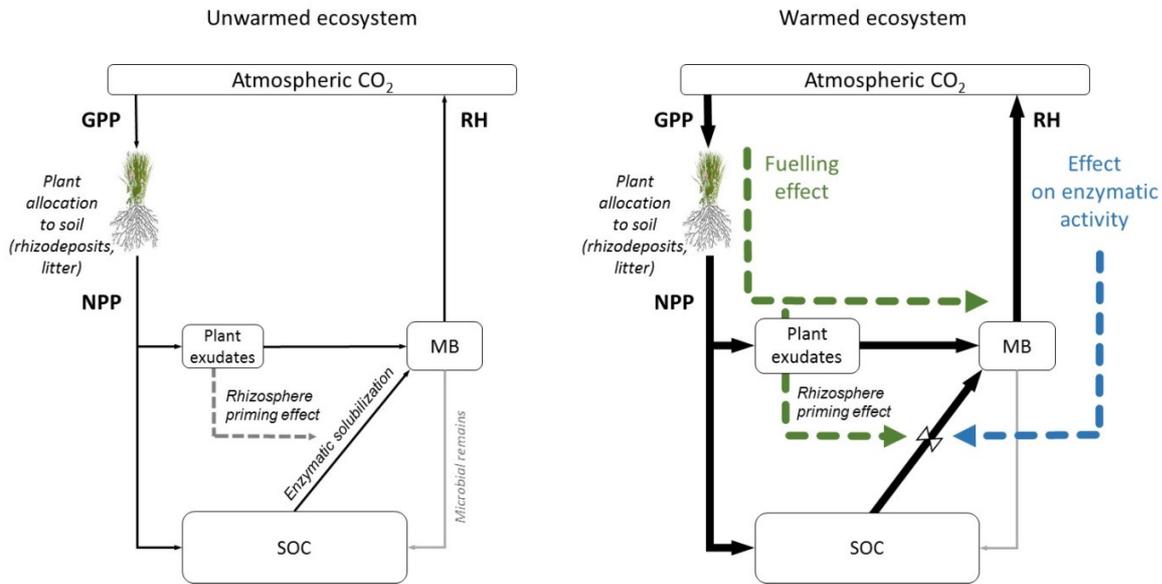


Figure 75 Effet direct et indirect de la température sur la respiration des sols. La température a un effet direct sur les activités enzymatiques des microorganismes en agissant sur leur activité catalytique et inactivation. La température peut également avoir un effet indirect en stimulant la photosynthèse des végétaux et donc la fourniture de carbone énergétique aux microorganismes. Ce fuelling effect intensifie la respiration des sols du fait de la respiration du carbone énergétique et du rhizosphère priming effect. Le fuelling effect peut avoir d'autres origines lorsque des écosystèmes différents sont comparés. Par exemple, le long des gradients latitudinaux de température la radiation lumineuse annuelle utilisable par les végétaux augmentent fortement stimulant la photosynthèse.

Un premier article est en cours de rédaction afin de présenter le concept de fuelling et un modèle mathématique permettant de le prendre en compte lors de l'analyse de la réponse de la respiration des sols à la température. La deuxième phase de ce travail aura pour objet une ré-analyse complète des données de respiration disponibles dans les bases de données européennes d'abord et internationales ensuite. Il est également prévu de prélever des sols sur un sous-échantillon de ces sites afin de mesurer les pools d'enzymes et leur turnover ainsi que les propriétés thermodynamiques des enzymes.

2.4.3 Intégration de la théorie dans Symphony: rôle régulant des mécanismes de synchronisation offre-demande.

La réponse de la respiration des sols à la température va également être sous le contrôle de régulations de type « systémique ». Par exemple, l'accélération des activités des enzymes de dégradation des matières organiques du sol en réponse à un changement de température ne va pas conduire seulement à la libération de CO₂ mais aussi de nutriments minéraux. Ces nutriments minéraux vont stimuler les microorganismes de type I et par ricochet inhiber les microorganismes de type M sécrétant les enzymes de dégradation des matières organiques du sol (Figure 76). Une rétroaction négative sur les activités enzymatiques se met en place. Au contraire, un ralentissement des activités enzymatiques dû à des températures moins favorables conduira à une cascade d'événements opposée : diminution de la libération de nutriments minéraux, inhibition des microorganismes I, stimulation des microorganismes M

et de leur production d'enzymes (rétroaction positive). De telles régulations permettraient de stabiliser les activités enzymatiques, la libération de l'azote et les stocks de matières organiques face à des fluctuations de l'environnement thermique (homéostasie du système).

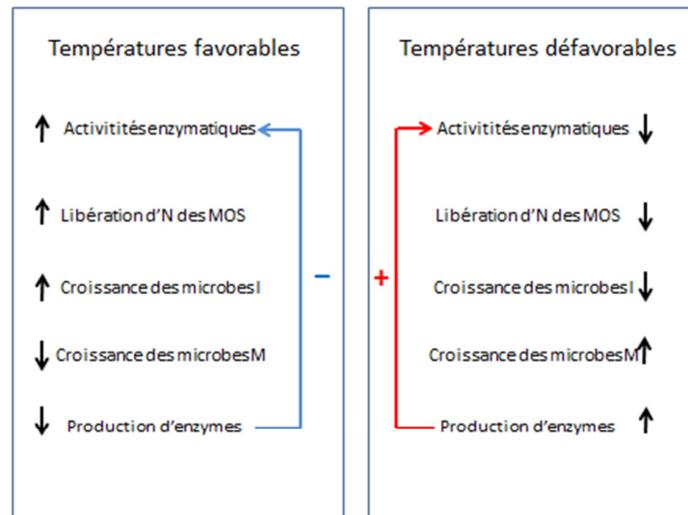


Figure 76 Régulation des activités enzymatiques du sol à la température que pourrait offrir le mécanisme de banque. A gauche, la rétroaction négative évite un emballement des activités enzymatiques qui conduiraient à une perte de matières organiques du sol et une libération de nutriments minéraux ne répondant pas à une demande des plantes. A droite, la rétroaction positive permet de maintenir une libération d'azote nécessaire au besoin de la plante.

Nous avons pour projet d'inclure la réponse à la température des activités microbiennes dans Symphony afin d'explorer ces boucles de rétroactions et l'adaptation du système à la température.

Bibliographie

- Alvarez, G., Shahzad, T., Andanson, L., Bahn, M., Wallenstein, M.D., Fontaine, S., 2018a. Catalytic power of enzymes decreases with temperature: New insights for understanding soil C cycling and microbial ecology under warming. *Glob. Change Biol.* 24, 4238–4250. <https://doi.org/10.1111/gcb.14281>
- Alvarez, G., Shahzad, T., Andanson, L., Bahn, M., Wallenstein, M.D., Fontaine, S., 2018b. Catalytic power of enzymes decreases with temperature: New insights for understanding soil C cycling and microbial ecology under warming. *Glob. Change Biol.* <https://doi.org/10.1111/gcb.14281>
- Attard, E., Le Roux, X., Charrier, X., Delfosse, O., Guillaumaud, N., Lemaire, G., Recous, S., 2016. Delayed and asymmetric responses of soil C pools and N fluxes to grassland/cropland conversions. *Soil Biol. Biochem.* 97, 31–39.
- Balesdent, J., Basile-Doelsch, I., Chadoeuf, J., Cornu, S., Derrien, D., Fekiacova, Z., Hatté, C., 2018. Atmosphere–soil carbon transfer as a function of soil depth. *Nature* 559, 599–602. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0328-3>
- Bardgett, R., Usher, M., Hopkins, D. (Eds.), 2005. *Biological Diversity and Function in Soils, Ecological Reviews*. Cambridge University Press, Cambridge. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511541926>
- Berner, R.A., 2012. Jacques-Joseph E' belmen, the founder of earth system science. *Comptes Rendus Geosci.* 344, 544–548.
- Bingeman, C.W., Varner, J.E., Martin, W.P., 1953. The effect of the addition of organic materials on the decomposition of an organic soil. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 29, 692–696.
- Blankinship, J., Schimel, J., 2018. Biotic versus Abiotic Controls on Bioavailable Soil Organic Carbon. *Soil Syst.* 2, 10.
- Blankinship, J.C., Becerra, C.A., Schaeffer, S.M., Schimel, J.P., 2014. Separating cellular metabolism from exoenzyme activity in soil organic matter decomposition. *Soil Biol. Biochem.* 71, 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.01.010>
- Boudsocq, S., Lata, J.-C., Mathieu, J., Abbadie, L., Barot, S., 2009. Modelling approach to analyse the effects of nitrification inhibition on primary production. *Funct. Ecol.* 23, 220–230.
- Boudsocq, S., Niboyet, A., Lata, J.C., Raynaud, X., Loeuille, N., Mathieu, J., Blouin, M., Abbadie, L., Barot, S., 2012. Plant Preference for Ammonium versus Nitrate: A Neglected Determinant of Ecosystem Functioning? *Am. Nat.* 180, 60–69. <https://doi.org/10.1086/665997>

- Bowden, R.D., Davidson, E., Savage, K., Arabia, C., Steudler, P., 2004. Chronic nitrogen additions reduce total soil respiration and microbial respiration in temperate forest soils at the Harvard Forest. *For. Ecol. Manag.* 196, 43–56. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.03.011>
- Bradford, M.A., McCulley, R.L., Crowther, T.W., Oldfield, E.E., Wood, S.A., Fierer, N., 2019. Cross-biome patterns in soil microbial respiration predictable from evolutionary theory on thermal adaptation. *Nat. Ecol. Evol.* 3, 223–231. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0771-4>
- Chen, S., Martin, M.P., Saby, N.P.A., Walter, C., Angers, D.A., Arrouays, D., 2018. Fine resolution map of top- and subsoil carbon sequestration potential in France. *Sci. Total Environ.* 630, 389–400. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.209>
- Cheng, W., Parton, W.J., Gonzalez-Meler, M.A., Phillips, R., Asao, S., McNickle, G.G., Brzostek, E., Jastrow, J.D., 2013. Synthesis and modeling perspectives of rhizosphere priming. *New Phytol.* n/a-n/a. <https://doi.org/10.1111/nph.12440>
- Chilom, G., Baglieri, A., Johnson-Edler, C.A., Rice, J.A., 2013. Hierarchical self-assembling properties of natural organic matter's components. *Org. Geochem.* 57, 119–126. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2013.02.008>
- Ciais, P., Denning, A.S., Tans, P.P., Berry, J.A., Randall, D.A., Collatz, G.J., Sellers, P.J., White, J.W.C., Trolier, M., Meijer, H.A.J., Francey, R.J., Monfray, P., Heimann, M., 1997. A three-dimensional synthesis study of $\delta^{18}\text{O}$ in atmospheric CO_2 : 1. Surface fluxes. *J. Geophys. Res. Atmospheres* 102, 5857–5872. <https://doi.org/10.1029/96JD02360>
- Ciais, P., Reichstein, M., Viovy, N., Granier, A., Ogée, J., Allard, V., Aubinet, M., Buchmann, N., Bernhofer, C., Carrara, A., Chevallier, F., De Noblet, N., Friend, A.D., Friedlingstein, P., Grünwald, T., Heinesch, B., Keronen, P., Knohl, A., Krinner, G., Loustau, D., Manca, G., Matteucci, G., Miglietta, F., Ourcival, J.M., Papale, D., Pilegaard, K., Rambal, S., Seufert, G., Soussana, J.F., Sanz, M.J., Schulze, E.D., Vesala, T., Valentini, R., 2005. Europe-wide reduction in primary productivity caused by the heat and drought in 2003. *Nature* 437, 529–533. <https://doi.org/10.1038/nature03972>
- Ciais, P., Sabine, C., Bala, G., Bopp, L., Brovkin, V., Canadell, J., Chhabra, A., DeFries, R., Galloway, J., Heimann, M., 2014. Carbon and other biogeochemical cycles, in: *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, pp. 465–570.
- Clarholm, M., 1985. Interactions of bacteria, protozoa and plants leading to mineralization of soil nitrogen. *Soil Biol. Biochem.* 17, 181–187.
- Courty, P.E., Smith, P., Koegel, S., Redecker, D., Wipf, D., 2015. Inorganic Nitrogen Uptake and Transport in Beneficial Plant Root-Microbe Interactions. *Crit. Rev. Plant Sci.* 34, 4–16. <https://doi.org/10.1080/07352689.2014.897897>
- Cros, C., 2019. Régulations microbiennes et rhizosphériques des cycles du carbone et de l'azote dans les systèmes de cultures conventionnels et innovants. Université Clermont Auvergne, Clermont Ferrand.
- Cros, C., Alvarez, G., Keuper, F., Fontaine, S., 2019. A new experimental platform connecting the rhizosphere priming effect with CO_2 fluxes of plant-soil systems. *Soil Biol. Biochem.* 130, 12–22. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.11.022>
- Dalenberg, J.W., Jager, G., 1989. Priming effect of some organic additions to ^{14}C -labeled soil. *Soil Biol. Biochem.* 21, 443–448.
- Davidson, E.A., Janssens, I.A., 2006. Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature* 440, 165–173. <https://doi.org/10.1038/nature04514>
- Dijkstra, F.A., Hobbie, S.E., Knops, J.M.H., Reich, P.B., 2004. Nitrogen deposition and plant species interact to influence soil carbon stabilization. *Ecol. Lett.* 7, 1192–1198. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00679.x>

- Dimassi, B., Mary, B., Wylleman, R., Labreuche, J., Couture, D., Piraux, F., Cohan, J.-P., 2014. Long-term effect of contrasted tillage and crop management on soil carbon dynamics during 41 years. *Agric. Ecosyst. Environ.* 188, 134–146. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2014.02.014>
- Donnadieu, Y., Godd ris, Y., Ramstein, G., N d lec, A., Meert, J., 2004. A snowball earth climate triggered by continental break-up through changes in runoff. *Nature* 428, 303–306.
- Duchene, O., Vian, J.-F., Celette, F., 2017. Intercropping with legume for agroecological cropping systems: Complementarity and facilitation processes and the importance of soil microorganisms. A review. *Agric. Ecosyst. Environ.* 240, 148–161. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.02.019>
- Elser, J., Dobberfuhl, D.R., MacKay, N.A., Schampel, J.H., 1996. Organism Size, Life History, and N:P Stoichiometry. *BioScience* 46, 674–684.
- Falkowski, P.G., Godfrey, L.V., 2008. Electrons, life and the evolution of Earth’s oxygen cycle. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 363, 2705–2716. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0054>
- Feulner, G., 2017. Formation of most of our coal brought Earth close to global glaciation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 114, 11333–11337. <https://doi.org/10.1073/pnas.1712062114>
- Filippelli, G.M., 2008. The global phosphorus cycle: past, present, and future. *Elements* 4, 89–95.
- Floudas, D., Binder, M., Riley, R., Barry, K., Blanchette, R., 2012. The Paleozoic Origin of Enzymatic Lignin Decomposition Reconstructed from 31 Fungal Genomes. *Science* 336, 1711–1715. <https://doi.org/10.1126/science.1222218>
- Fontaine, S., Bardoux, G., Abbadie, L., Mariotti, A., 2004a. Carbon input to soil may decrease soil carbon content: Carbon input in soil carbon sequestration. *Ecol. Lett.* 7, 314–320. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00579.x>
- Fontaine, S., Bardoux, G., Abbadie, L., Mariotti, A., 2004b. Carbon input to soil may decrease soil carbon content. *Ecol. Lett.* 7, 314–320. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00579.x>
- Fontaine, S., Barot, S., 2005. Size and functional diversity of microbe populations control plant persistence and long-term soil carbon accumulation: Modelling long-term SOM dynamics. *Ecol. Lett.* 8, 1075–1087. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00813.x>
- Fontaine, S., Barot, S., Barr , P., Bdioui, N., Mary, B., Rumpel, C., 2007. Stability of organic carbon in deep soil layers controlled by fresh carbon supply. *Nature* 450, 277–280. <https://doi.org/10.1038/nature06275>
- Fontaine, S., Henault, C., Aamor, A., Bdioui, N., Bloor, J.M.G., Maire, V., Mary, B., Revaillo, S., Maron, P.A., 2011. Fungi mediate long term sequestration of carbon and nitrogen in soil through their priming effect. *Soil Biol. Biochem.* 43, 86–96. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.09.017>
- Fontaine, S., Mariotti, A., Abbadie, L., 2003. The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biol. Biochem.* 35, 837–843. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00123-8](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00123-8)
- Fontaine, S., Stahl, C., Klumpp, K., Picon-Cochard, C., Grise, M.M., Dez cache, C., Ponchant, L., Freycon, V., Blanc, L., Bonal, D., 2018. Response to Editor to the comment by Schipper & Smith to our paper entitled “Continuous soil carbon storage of old permanent pastures in Amazonia.” *Age Years* 22, 32.
- Fowler, D., Coyle, M., Skiba, U., Sutton, M.A., Cape, J.N., Reis, S., Sheppard, L.J., Jenkins, A., Grizzetti, B., Galloway, J.N., Vitousek, P., Leach, A., Bouwman, A.F., Butterbach-Bahl, K., Dentener, F., Stevenson, D., Amann, M., Voss, M., 2013. The global nitrogen cycle in the twenty-first century. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 368, 20130164–20130164. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0164>
- Francesconi, K.A., Chorover, J., 2010. Recalcitrance – dead and buried? *Environ. Chem.* 7, 319. https://doi.org/10.1071/ENv7n4_ED
- Galloway, J.N., Townsend, A.R., Erisman, J.W., Bekunda, M., Cai, Z., Freney, J.R., Martinelli, L.A., Seitzinger, S.P., Sutton, M.A., 2008. Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. *Science* 320, 889–892.

- Garcia, K., Doidy, J., Zimmermann, S.D., Wipf, D., Courty, P.-E., 2016. Take a Trip Through the Plant and Fungal Transportome of Mycorrhiza. *Trends Plant Sci.* 21, 937–950. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.07.010>
- Giardina, Christian P., Ryan, M.G., 2000. Evidence that decomposition rates of organic carbon in mineral soil do not vary with temperature. *Nature* 404, 858–861. <https://doi.org/10.1038/35009076>
- Giardina, C. P., Ryan, M.G., 2000. Biogeochemistry - Soil warming and organic carbon content - Reply. *Nature* 408, 790–790. <https://doi.org/10.1038/35048675>
- Groenigen, K.J. van, Qi, X., Osenberg, C.W., Luo, Y., Hungate, B.A., 2014a. Faster Decomposition Under Increased Atmospheric CO₂ Limits Soil Carbon Storage. *Science* 344, 508–509. <https://doi.org/10.1126/science.1249534>
- Groenigen, K.J. van, Qi, X., Osenberg, C.W., Luo, Y., Hungate, B.A., 2014b. Faster Decomposition Under Increased Atmospheric CO₂ Limits Soil Carbon Storage. *Science* 344, 508–509. <https://doi.org/10.1126/science.1249534>
- Guan, X.-K., Turner, N.C., Song, L., Gu, Y.-J., Wang, T.-C., Li, F.-M., 2015. Soil carbon sequestration by three perennial legume pastures is greater in deeper soil layers than in the surface soil. *Biogeosciences Discuss.* 12, 10115–10135. <https://doi.org/10.5194/bgd-12-10115-2015>
- Guenet, B., Camino-Serrano, M., Ciais, P., Tifafi, M., Maignan, F., Soong, J.L., Janssens, I.A., 2018. Impact of priming on global soil carbon stocks. *Glob. Change Biol.* 24, 1873–1883.
- Guenet, B., Juarez, S., Bardoux, G., Abbadie, L., Chenu, C., 2012. Evidence that stable C is as vulnerable to priming effect as is more labile C in soil. *Soil Biol. Biochem.* 52, 43–48.
- Guenet, B., Moyano, F.E., Peylin, P., Ciais, P., Janssens, I.A., 2016. Towards a representation of priming on soil carbon decomposition in the global land biosphere model ORCHIDEE (version 1.9. 5.2). *Geosci. Model Dev.* 9, 841–855.
- Guinet, M., Nicolardot, B., Revellin, C., Durey, V., Carlsson, G., Voisin, A.-S., 2018. Comparative effect of inorganic N on plant growth and N₂ fixation of ten legume crops: towards a better understanding of the differential response among species. *Plant Soil* 432, 207–227.
- Hagedorn, F., Spinnler, D., Siegwolf, R., 2003. Increased N deposition retards mineralization of old soil organic matter. *Soil Biol. Biochem.* 35, 1683–1692. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2003.08.015>
- Hassink, J., Whitmore, A.P., 1997. A model of the physical protection of organic matter in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61, 131–139.
- Heitkötter, J., Marschner, B., 2018. Soil zymography as a powerful tool for exploring hotspots and substrate limitation in undisturbed subsoil. *Soil Biol. Biochem.* 124, 210–217. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.06.021>
- Henneron, L., Chauvat, M., Archaux, F., Akpa-Vinceslas, M., Bureau, F., Dumas, Y., Mignot, L., Ningre, F., Perret, S., Richter, C., 2017. Plant interactions as biotic drivers of plasticity in leaf litter traits and decomposability of *Quercus petraea*. *Ecol. Monogr.* 87, 321–340.
- Henneron, L., Cros, C., Picon-Cochard, C., Rahimian, V., Fontaine, S., En révision. Plant economic strategies of grassland species control soil carbon dynamics through rhizodeposition. *Journal Ecol.*
- Henneron, L., Picon-Cochard, C., Rahimian, V., Fontaine, S., 2019. Plant economic strategies of grassland species control soil carbon dynamics through rhizodeposition. *J. Ecol.* *Accepté pour publication.*
- Hinsinger, P., 2001. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant Soil* 237, 173–195.
- Houghton, R.A., House, J.I., Pongratz, J., Werf, G.R. van der, DeFries, R.S., Hansen, M.C., Quéré, C.L., Ramankutty, N., 2012. Carbon emissions from land use and land-cover change. *Biogeosciences* 9, 5125–5142. <https://doi.org/https://doi.org/10.5194/bg-9-5125-2012>
- INRA Expertise Scientifique Collective, 2002. Stocker du carbone dans les sols agricoles de France ?
- Jackson, W., 2002. Natural systems agriculture: a truly radical alternative. *Agric. Ecosyst. Environ.* 88, 111–117.

- Keiluweit, M., Bougoure, J.J., Nico, P.S., Pett-Ridge, J., Weber, P.K., Kleber, M., 2015. Mineral protection of soil carbon counteracted by root exudates. *Nat. Clim. Change* 5, 588–595. <https://doi.org/10.1038/nclimate2580>
- Kéroual, B., Fontaine, S., Lallement, A., Revaillet, S., Billard, H., Alvarez, G., Maestre, F., Amblard, C., Lehours, A.-C., 2018. Cellular and non-cellular mineralization of organic carbon in soils with contrasted physicochemical properties. *Soil Biol. Biochem.* 125, 286–289. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.07.023>
- Kéroual, B., Lehours, A.C., Colombet, J., Amblard, C., Alvarez, G., Fontaine, S., 2016. Soil carbon dioxide emissions controlled by an extracellular oxidative metabolism identifiable by its isotope signature. *Biogeosciences* 13, 6353–6362. <https://doi.org/10.5194/bg-13-6353-2016>
- Keuper, F., Dorrepaal, E., van Bodegom, P.M., van Logtestijn, R., Venhuizen, G., van Hal, J., Aerts, R., 2017. Experimentally increased nutrient availability at the permafrost thaw front selectively enhances biomass production of deep-rooting subarctic peatland species. *Glob. Change Biol.* 23, 4257–4266. <https://doi.org/10.1111/gcb.13804>
- Kleber, M., 2010. What is recalcitrant soil organic matter? *Environ. Chem.* 7, 320. <https://doi.org/10.1071/EN10006>
- Kleber, M., Sollins, P., Sutton, R., 2007. A conceptual model of organo-mineral interactions in soils: self-assembly of organic molecular fragments into zonal structures on mineral surfaces. *Biogeochemistry* 85, 9–24. <https://doi.org/10.1007/s10533-007-9103-5>
- Knorr, W., Prentice, I.C., House, J.I., Holland, E.A., 2005. Long-term sensitivity of soil carbon turnover to warming. *Nature* 433, 298–301. <https://doi.org/10.1038/nature03226>
- Kuzyakov, Y., Friedel, J.K., Stahr, K., 2000. Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biol. Biochem.* 32, 1485–1498. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(00\)00084-5](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00084-5)
- Lata, J.-C., Degrange, V., Raynaud, X., Maron, P.-A., Lensi, R., Abbadie, L., 2004. Grass populations control nitrification in savanna soils. *Funct. Ecol.* 18, 605–611.
- Le Bissonnais, Y., Arrouays, D., 1997. Aggregate stability and assessment of soil crustability and erodibility: II. Application to humic loamy soils with various organic carbon contents. *Eur. J. Soil Sci.* 48, 39–48.
- Loiseau, P., Soussana, J.-F., Louault, F., Delpy, R., 2001. Soil N contributes to the oscillations of the white clover content in mixed swards of perennial ryegrass under conditions that simulate grazing over five years. *Grass Forage Sci.* 56, 205–217.
- Luo, Y., Wan, S., Hui, D., Wallace, L.L., 2001. Acclimatization of soil respiration to warming in a tall grass prairie. *Nature* 413, 622–625. <https://doi.org/10.1038/35098065>
- Luyssaert, S., Schulze, E.-D., Börner, A., Knohl, A., Hessenmöller, D., Law, B.E., Ciais, P., Grace, J., 2008. Old-growth forests as global carbon sinks. *Nature* 455, 213–215. <https://doi.org/10.1038/nature07276>
- Lynch, J.M., Panting, L.M., 1980. Variations in the size of the soil biomass. *Soil Biol. Biochem.* 12, 547–550. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(80\)90033-4](https://doi.org/10.1016/0038-0717(80)90033-4)
- Maire, V., Alvarez, G., Colombet, J., Comby, A., Despinasse, R., Dubreucq, E., Joly, M., Lehours, A.-C., Perrier, V., Shahzad, T., Fontaine, S., 2013a. An unknown oxidative metabolism substantially contributes to soil CO₂ emissions. *Biogeosciences* 10, 1155–1167. <https://doi.org/10.5194/bg-10-1155-2013>
- Maire, V., Alvarez, G., Colombet, J., Comby, A., Despinasse, R., Dubreucq, E., Joly, M., Lehours, A.-C., Perrier, V., Shahzad, T., Fontaine, S., 2013b. An unknown oxidative metabolism substantially contributes to soil CO₂ emissions. *Biogeosciences* 10, 1155–1167. <https://doi.org/10.5194/bg-10-1155-2013>
- Maire, V., Alvarez, G., Colombet, J., Comby, A., Despinasse, R., Dubreucq, E., Joly, M., Lehours, A.-C., Perrier, V., Shahzad, T., Fontaine, S., 2013c. An unknown oxidative metabolism substantially

- contributes to soil CO₂ emissions. *Biogeosciences* 10, 1155–1167. <https://doi.org/10.5194/bg-10-1155-2013>
- Majcher, E.H., Chorover, J., Bollag, J.-M., Huang, P.M., 2000. Evolution of CO₂ during birnessite-induced oxidation of 14 C-labeled catechol. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, 157–163.
- Marschner, B., Brodowski, S., Dreves, A., Gleixner, G., Gude, A., Grootes, P.M., Hamer, U., Heim, A., Jandl, G., Ji, R., Kaiser, K., Kalbitz, K., Kramer, C., Leinweber, P., Rethemeyer, J., Schäffer, A., Schmidt, M.W.I., Schwark, L., Wiesenberg, G.L.B., 2008. How relevant is recalcitrance for the stabilization of organic matter in soils? *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 171, 91–110. <https://doi.org/10.1002/jpln.200700049>
- Martin, M.P., Wattenbach, M., Smith, P., Meersmans, J., Jolivet, C., Boulonne, L., Arrouays, D., 2011. Spatial distribution of soil organic carbon stocks in France. *Biogeosciences* 8, 1053–1065. <https://doi.org/10.5194/bg-8-1053-2011>
- Mary, B., Recous, S., Robin, D., 1998. A model for calculating nitrogen fluxes in soil using 15 N tracing. *Soil Biol. Biochem.* 30, 1963–1979.
- Mendez-Millan, M., Nguyen Tu, T.T., Balesdent, J., Derenne, S., Derrien, D., Egasse, C., Thongo M'Bou, A., Zeller, B., Hatté, C., 2014. Compound-specific 13C and 14C measurements improve the understanding of soil organic matter dynamics. *Biogeochemistry* 118, 205–223. <https://doi.org/10.1007/s10533-013-9920-7>
- Menicucci, J., Beyenal, H., Marsili, E., Veluchamy, R.A., Demir, G., Lewandowski, Z., 2006. Procedure for determining maximum sustainable power generated by microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol.* 40, 1062–1068.
- Merino, C., 2015. EFFECT OF SOIL MINERAL COMPOSITION ON AVAILABLE CARBON AND PRIMING EFFECT IN PRISTINE OLD GROWTH TEMPERATE RAIN FORESTS. Universidad de la Frontera, Temuco, Chile.
- Muchowska, K.B., Varma, S.J., Chevallot-Beroux, E., Lethuillier-Karl, L., Li, G., Moran, J., 2017. Metals promote sequences of the reverse Krebs cycle. *Nat. Ecol. Evol.* 1, 1716–1721. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0311-7>
- Murphy, D.V., Recous, S., Stockdale, E.A., Fillery, I.R.P., Jensen, L.S., Hatch, D.J., Goulding, K.W.T., 2003. Gross nitrogen fluxes in soil: theory, measurement and application of 15 N pool dilution techniques. *Adv. Agron.* 79, 69–118.
- Nasto, M.K., Winter, K., Turner, B.L., Cleveland, C.C., 2019. Nutrient acquisition strategies augment growth in tropical N₂-fixing trees in nutrient-poor soil and under elevated CO₂. *Ecology* 100, e02646. <https://doi.org/10.1002/ecy.2646>
- Nguyen, C., Froux, F., Recous, S., Morvan, T., Robin, C., 2008. Net N immobilisation during the biodegradation of mucilage in soil as affected by repeated mineral and organic fertilisation. *Nutr. Cycl. Agroecosystems* 80, 39–47.
- Nunan, N., Wu, K., Young, I.M., Crawford, J.W., Ritz, K., 2003. Spatial distribution of bacterial communities and their relationships with the micro-architecture of soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 44, 203–215. [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(03\)00027-8](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(03)00027-8)
- Perveen, N., 2014. Intégration de l'écologie microbienne dans les modèles biogéochimiques : conséquences pour les prévisions du stockage du Carbone et la fertilité des sols. Université Paris Sorbonnes, Paris.
- Perveen, N., Barot, S., Alvarez, G., Klumpp, K., Martin, R., Rapaport, A., Herfurth, D., Louault, F., Fontaine, S., 2014. Priming effect and microbial diversity in ecosystem functioning and response to global change: a modeling approach using the SYMPHONY model. *Glob. Change Biol.* 20, 1174–1190. <https://doi.org/10.1111/gcb.12493>
- Perveen, N., Barot, S., Maire, V., Shahzad, T., Siddiq, M.R., Blagodatskaya, E., Stewart, C., Ding, W., Dimassi, B., Mary, B., Fontaine, S., 2019. Universality of priming effect: an analysis using thirty

- five soils with contrasted properties sampled from five continents. *Soil Biol. Biochem.* sous presse.
- Peyraud, J.L., Cellier, P., Donnars, C., Réchauchère, O., 2012. Les flux d'azote liés aux élevages, réduire les pertes, rétablir les équilibres.
- Quéré, C.L., Andrew, R.M., Canadell, J.G., Sitch, S., Korsbakken, J.I., Peters, G.P., Manning, A.C., Boden, T.A., Tans, P.P., Houghton, R.A., Keeling, R.F., Alin, S., Andrews, O.D., Anthoni, P., Barbero, L., Bopp, L., Chevallier, F., Chini, L.P., Ciais, P., Currie, K., Delire, C., Doney, S.C., Friedlingstein, P., Gkritzalis, T., Harris, I., Hauck, J., Haverd, V., Hoppema, M., Klein Goldewijk, K., Jain, A.K., Kato, E., Körtzinger, A., Landschützer, P., Lefèvre, N., Lenton, A., Lienert, S., Lombardozzi, D., Melton, J.R., Metzl, N., Millero, F., Monteiro, P.M.S., Munro, D.R., Nabel, J.E.M.S., Nakaoka, S., O'Brien, K., Olsen, A., Omar, A.M., Ono, T., Pierrot, D., Poulter, B., Rödenbeck, C., Salisbury, J., Schuster, U., Schwinger, J., Séférian, R., Skjelvan, I., Stocker, B.D., Sutton, A.J., Takahashi, T., Tian, H., Tilbrook, B., Laan-Luijkx, I.T. van der, Werf, G.R. van der, Viovy, N., Walker, A.P., Wiltshire, A.J., Zaehle, S., 2016. Global Carbon Budget 2016. *Earth Syst. Sci. Data* 8, 605–649. <https://doi.org/https://doi.org/10.5194/essd-8-605-2016>
- Quéré, C.L., Moriarty, R., Andrew, R.M., Canadell, J.G., Sitch, S., Korsbakken, J.I., Friedlingstein, P., Peters, G.P., Andres, R.J., Boden, T.A., Houghton, R.A., House, J.I., Keeling, R.F., Tans, P., Arneeth, A., Bakker, D.C.E., Barbero, L., Bopp, L., Chang, J., Chevallier, F., Chini, L.P., Ciais, P., Fader, M., Feely, R.A., Gkritzalis, T., Harris, I., Hauck, J., Ilyina, T., Jain, A.K., Kato, E., Kitidis, V., Klein Goldewijk, K., Koven, C., Landschützer, P., Lauvset, S.K., Lefèvre, N., Lenton, A., Lima, I.D., Metzl, N., Millero, F., Munro, D.R., Murata, A., Nabel, J.E.M.S., Nakaoka, S., Nojiri, Y., O'Brien, K., Olsen, A., Ono, T., Pérez, F.F., Pfeil, B., Pierrot, D., Poulter, B., Rehder, G., Rödenbeck, C., Saito, S., Schuster, U., Schwinger, J., Séférian, R., Steinhoff, T., Stocker, B.D., Sutton, A.J., Takahashi, T., Tilbrook, B., Laan-Luijkx, I.T. van der, Werf, G.R. van der, Heuven, S. van, Vandemark, D., Viovy, N., Wiltshire, A., Zaehle, S., Zeng, N., 2015. Global Carbon Budget 2015. *Earth Syst. Sci. Data* 7, 349–396. <https://doi.org/https://doi.org/10.5194/essd-7-349-2015>
- Recous, S., Loiseau, P., Machet, J., Mary, B., 1996. Transformations et devenir de l'azote de l'engrais sous cultures annuelles et sous prairies, in: *Maitrise de L'azote Dans Les Agrosystèmes*. pp. 105–120.
- Reichstein, M., Ågren, G.I., Fontaine, S., 2009. Is There a Theoretical Limit to Soil Carbon Storage in Old-Growth Forests? A Model Analysis with Contrasting Approaches, in: Wirth, C., Gleixner, G., Heimann, M. (Eds.), *Old-Growth Forests*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 267–281.
- Retallack, G.J., 1997. Early forest soils and their role in Devonian global change. *Science* 276, 583–585.
- Running, S.W., 2012. A Measurable Planetary Boundary for the Biosphere. *Science* 337, 1458–1459. <https://doi.org/10.1126/science.1227620>
- Sauvadet, M., Lashermes, G., Alavoine, G., Recous, S., Chauvat, M., Maron, P.-A., Bertrand, I., 2018. High carbon use efficiency and low priming effect promote soil C stabilization under reduced tillage. *Soil Biol. Biochem.* 123, 64–73.
- Schmidt, M.W.I., Torn, M.S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I.A., Kleber, M., Kögel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning, D.A.C., Nannipieri, P., Rasse, D.P., Weiner, S., Trumbore, S.E., 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature* 478, 49–56. <https://doi.org/10.1038/nature10386>
- Shahzad, T., Chenu, C., Genet, P., Barot, S., Perveen, N., Mougin, C., Fontaine, S., 2015. Contribution of exudates, arbuscular mycorrhizal fungi and litter depositions to the rhizosphere priming effect induced by grassland species. *Soil Biol. Biochem.* 80, 146–155. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.09.023>
- Shahzad, T., Chenu, C., Repinçay, C., Mougin, C., Ollier, J.-L., Fontaine, S., 2012a. Plant clipping decelerates the mineralization of recalcitrant soil organic matter under multiple grassland species. *Soil Biol. Biochem.* 51, 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.04.014>

- Shahzad, T., Chenu, C., Repinçay, C., Mougin, C., Ollier, J.-L., Fontaine, S., 2012b. Plant clipping decelerates the mineralization of recalcitrant soil organic matter under multiple grassland species. *Soil Biol. Biochem.* 51, 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.04.014>
- Shahzad, T., Chenu, C., Repinçay, C., Mougin, C., Ollier, J.-L., Fontaine, S., 2012c. Plant clipping decelerates the mineralization of recalcitrant soil organic matter under multiple grassland species. *Soil Biol. Biochem.* 51, 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.04.014>
- Shahzad, T., Rashid, M.I., Maire, V., Barot, S., Perveen, N., Alvarez, G., Mougin, C., Fontaine, S., 2018. Root penetration in deep soil layers stimulates mineralization of millennia-old organic carbon. *Soil Biol. Biochem.* 124, 150–160. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.06.010>
- Smith, P., 2014. Do grasslands act as a perpetual sink for carbon? *Glob. Change Biol.* 20, 2708–2711. <https://doi.org/10.1111/gcb.12561>
- Soussana, J.F., Hartwig, U.A., 1995. The effects of elevated CO₂ on symbiotic N₂ fixation: a link between the carbon and nitrogen cycles in grassland ecosystems. *Plant Soil* 187, 321–332. <https://doi.org/10.1007/BF00017097>
- Srikanthasamy, T., Leloup, J., N'Dri, A.B., Barot, S., Gervais, J., Koné, A.W., Koffi, K.F., Le Roux, X., Raynaud, X., Lata, J.-C., 2018. Contrasting effects of grasses and trees on microbial N-cycling in an African humid savanna. *Soil Biol. Biochem.* 117, 153–163.
- Sutton, R., Sposito, G., 2005. Molecular Structure in Soil Humic Substances: The New View. *Environ. Sci. Technol.* 39, 9009–9015. <https://doi.org/10.1021/es050778q>
- Torn, M.S., Trumbore, S.E., Chadwick, O.A., Vitousek, P.M., Hendricks, D.M., 1997. Mineral control of soil organic carbon storage and turnover. *Nature* 389, 170–173. <https://doi.org/10.1038/38260>
- Trap, J., Akpa-Vinceslas, M., Margerie, P., Boudsocq, S., Richard, F., Decaëns, T., Aubert, M., 2017. Slow decomposition of leaf litter from mature *Fagus sylvatica* trees promotes offspring nitrogen acquisition by interacting with ectomycorrhizal fungi. *J. Ecol.* 105, 528–539.
- Ussiri, D.A.N., Lal, R., 2017. Carbon Sequestration for Climate Change Mitigation and Adaptation. Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-53845-7>
- Vigouroux, Y., Barnaud, A., Scarcelli, N., Thuillet, A.-C., 2011. Biodiversity, evolution and adaptation of cultivated crops. *Biodivers. Face Hum. Act. Biodiversite Face Aux Act. Hum.* 334, 450–457. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2011.03.003>
- Vitousek, P.M., Cassman, K.E.N., Cleveland, C., Crews, T., Field, C.B., Grimm, N.B., Howarth, R.W., Marino, R., Martinelli, L., Rastetter, E.B., 2002. Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation, in: *The Nitrogen Cycle at Regional to Global Scales*. Springer, pp. 1–45.
- Walker, J.C.G., 1981. A negative feedback mechanism for the long-term stabilization of earth's surface temperature. *J. Geophys. Res.* 86, 9776–9782.
- Wang, B., Lerda, M., He, Y., 2017. Widespread production of nonmicrobial greenhouse gases in soils. *Glob. Change Biol.* <https://doi.org/10.1111/gcb.13753>
- Yu, G.-R., Zhu, X.-J., Fu, Y.-L., He, H.-L., Wang, Q.-F., Wen, X.-F., Li, X.-R., Zhang, L.-M., Zhang, L., Su, W., Li, S.-G., Sun, X.-M., Zhang, Y.-P., Zhang, J.-H., Yan, J.-H., Wang, H.-M., Zhou, G.-S., Jia, B.-R., Xiang, W.-H., Li, Y.-N., Zhao, L., Wang, Y.-F., Shi, P.-L., Chen, S.-P., Xin, X.-P., Zhao, F.-H., Wang, Y.-Y., Tong, C.-L., 2013. Spatial patterns and climate drivers of carbon fluxes in terrestrial ecosystems of China. *Glob. Change Biol.* 19, 798–810. <https://doi.org/10.1111/gcb.12079>