



HAL
open science

Élaboration d'un dispositif expérimental de manipulations de matière organique sur le long terme en forêt tempérée et évaluation des impacts à très court terme des exportations sur le sol

Emila Akroume

► To cite this version:

Emila Akroume. Élaboration d'un dispositif expérimental de manipulations de matière organique sur le long terme en forêt tempérée et évaluation des impacts à très court terme des exportations sur le sol. Science des sols. AgroParisTech, 2015. Français. NNT : 2015AGPT0069 . tel-02796766

HAL Id: tel-02796766

<https://hal.inrae.fr/tel-02796766>

Submitted on 19 Nov 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.



Doctorat ParisTech

T H È S E

pour obtenir le grade de docteur délivré par

**L'Institut des Sciences et Industries
du Vivant et de l'Environnement
(AgroParisTech)**

Spécialité : Biologie Végétale et Forestière
Présentée et soutenue publiquement par

Emila AKROUME

le 11 décembre 2015

Élaboration d'un dispositif expérimental de manipulations de matière organique sur le long terme en forêt tempérée et évaluation des impacts à très court terme des exportations sur le sol

Directeur de thèse : **Laurent SAINT-ANDRE**
Co-direction de la thèse : **Marc BUEE et Bernhard ZELLER**

Jury

M. Eric GELHAYE, Pr, UMR IAM, Université de Lorraine,
M. Jean-Paul LACLAU, DR, UMR Eco & Sol, CIRAD Montpellier
Mme Ana RINCÓN, Chercheur senior, Departamento de protección vegetal, ICA-CSIC, Madrid
M. Lauric CECILLON, CR, UR EMGR, IRSTEA Grenoble
Mme Christine DELEUZE, Chargée de R&D, ONF RDI, Pôle de Dôle
M. Marc BUEE, DR, UMR IAM, INRA Nancy
M. Laurent SAINT-ANDRE, DR, UR BEF, INRA Nancy
M. Bernhard ZELLER, IR, UR BEF, INRA Nancy

Président
Rapporteur
Rapporteur
Examinateur
Examinateur
Directeur de thèse
Directeur de thèse
Directeur de thèse

Élaboration d'un dispositif expérimental de manipulations de matière organique sur le long terme en forêt tempérée et évaluation des impacts à très court terme des exportations sur le sol

Résumé

Les rémanents de coupe constituent une ressource non exploitée potentiellement utilisable à des fins énergétiques, mais aussi un compartiment essentiel pour la fertilité et la biodiversité des sols forestiers. Des études en zones tropicales ou boréales prouvent les impacts négatifs de telles pratiques sur les écosystèmes forestiers. Le réseau Matières Organiques des Sols (MOS) a été élaboré afin d'évaluer les effets à court et long terme des manipulations de matière organique sur les peuplements forestiers tempérés.

Cette thèse a deux objectifs : i) élaborer la méthodologie nécessaire pour caractériser la variabilité des écosystèmes puis mettre en œuvre le dispositif expérimental national de manipulations de matière organique en tenant compte de cette variabilité et ii) décrire les impacts à très court terme des prélèvements de biomasse sur le fonctionnement des sols forestiers. Ce second objectif s'articule en deux volets: une première partie vise à évaluer l'impact de ces pratiques sylvicoles sur l'équilibre des cycles biogéochimiques et la diversité des communautés fongiques du sol *in situ*. Une seconde échelle d'étude, en conditions contrôlées, concerne le décryptage des interactions trophiques entre l'arbre, les champignons ectomycorhiziens associés, et les champignons lignivores au cours de la dégradation du bois.

Ce premier suivi des sites du réseau MOS nous renseigne sur la réactivité à très court terme des sols forestiers en zone tempérée. L'absence de tendance claire confirme une préservation de l'équilibre des cycles sur un faible laps de temps mais permet de dégager des indicateurs fonctionnels qui semblent répondre rapidement aux perturbations. Un suivi annuel consolidera ces observations sur l'ensemble du dispositif MOS, incluant les indicateurs biologiques qui pourront être mis en évidence sur les communautés fongiques.

Mots-clés : durabilité des écosystèmes – exportation de biomasse – sol forestier – flux biogéochimiques - biodiversité fongique – variabilité spatiale – réseau trophique

Elaboration of a long-term monitoring experiment on organic matter managements in temperate forest and evaluation of the impacts of exportations on soil at very short-term

Abstract

Logging residues represent a non-exploited supply which could be used for energetic purpose, but they are also a relevant compartment for forest soil fertility and biodiversity. Some studies in tropical and boreal context have highlighted the negative impacts of these practices on the forest ecosystems. The MOS network has been set up to evaluate the effects of organic matters manipulations on temperate forest stands at short and long term.

This thesis has two objectives: i) to set up the methodology necessary to characterized the ecosystems' variability and then, to implement the national experimental design of organic matter manipulation by taking into account this variability and ii) to describe the very short terms impacts of organic matter removal on the forest soil cycling. This second aim is organized into two axes: a first part evaluates the impacts of these silvicultural practices on the biogeochemical cycles and the diversity of fungal communities. A second study scale, in controlled conditions, deals with the understanding of the trophic interactions between trees, ectomycorrhizal fungi and saprotrophic fungi during the wood decaying process.

The absence of clear trend confirms the persistence in the soil functioning at very short term. This first monitoring permitted to identify some functional indicators. A regular monitoring will strengthen these observations by introducing some biological indicators on fungal communities.

Keywords: ecosystem sustainability – biomass exportations –forest soil – biogeochemical fluxes – soil fungal biodiversity – spatial variability – soil foodweb

« J'ai lu de nombreuses définitions de ce qu'est un écologiste, et j'en ai moi-même écrit quelques-unes, mais je soupçonne que la meilleure d'entre elles ne s'écrit pas au stylo, mais à la cognée. La question est: à quoi pense un homme au moment où il coupe un arbre, ou au moment où il décide de ce qu'il doit couper? Un écologiste est quelqu'un qui a conscience, humblement, qu'à chaque coup de cognée, il inscrit sa signature sur la face de sa terre. »

*Aldo Leopold
Almanach d'un comté des sables*

Avant-propos et remerciements

Alors que je m'apprête à achever ce manuscrit, je réalise que six ans se sont déjà écoulés depuis mon arrivée à Nancy et mes premiers pas dans l'univers forestier. Si je devais remonter jusqu'aux éléments déclencheurs qui m'ont poussée vers cette thèse, j'en retiendrais deux : les cours passionnants de pédologie forestière de Bernard Jabiol, et une conférence sur la symbiose mycorhizienne par Francis Martin lors d'une séance de l'Académie d'Agriculture de France. J'ai eu alors la certitude que je souhaitais compléter ma formation d'ingénieur par un doctorat, et que cela devrait « parler » de fertilité des sols forestiers et de champignons... Je suis allée toquer aux portes de l'unité Interactions arbres-microorganismes, puis courant 2011, j'ai fini par pousser les portes du laboratoire BEF. Laurent Saint-André et Bernd Zeller m'ont parlé pour la première fois du projet de réseau Matières Organiques des Sols, un pari un peu fou où il était question de dix-huit sites expérimentaux à travers la France, et de balayage des litières forestières sur près d'un hectare. J'avais trouvé mon sujet ! Etant élève ingénieur de l'agriculture et l'environnement, il s'en est suivi quelques réunions et entretiens pour défendre mon projet de thèse en FCPR auprès de différents services du MAAF. L'idée a été accueillie avec un regard tantôt enthousiaste, tantôt dubitatif, mais les échanges ont toujours été très enrichissants.

Je profite donc de ces quelques lignes pour exprimer ma reconnaissance envers la commission d'évaluation des ingénieurs spécialistes qui ont adhéré à ce projet et m'ont autorisée à le concrétiser au cours de ma FCPR.

Je souhaite aussi remercier Meriem Fournier pour m'avoir accompagnée dans mes démarches d'avant et d'après thèse.

Merci aussi aux membres du jury, Lauric Cécillon, Christine Deleuze, Eric Gelhay, Jean-Paul Laclau et Ana Rincón, d'avoir accepté d'évaluer mon travail.

Je tiens à remercier particulièrement l'Office National des Forêts et les propriétaires forestiers privés qui nous ont permis d'installer les sites MOS sur leurs parcelles. Un grand merci à Noémie Pousse, Claudine Richter, Manuel Nicolas, Christine Deleuze, pour leur support dans la phase de sélection de sites, et aux agents ONF et gestionnaires privés, avec qui j'ai interagi dans la « gestion courante » des sites MOS : Henri Juif, Michel Leblanc, Pascal Debailleuil, Yves Poirot, Claude Aubailly, Eric Keiser, Elise Vial, Timothée De Ferrières, Alexis Guillon, Bruno Liniger et Laurent Bissonnier. Je remercie au passage tous

les agents ONF, gestionnaires, experts, ingénieurs CRPF qui ont pris le temps de me répondre par mail ou par téléphone, de me guider dans mes recherches, et de nous accueillir durant nos tournées de prospection de parcelles.

Merci à la Protection Judiciaire de la Jeunesse pour son soutien technique sur les chantiers, et plus généralement, à tous ceux qui ont participé aux campagnes de prélèvements de sol et aux chantiers d'installation des sites MOS. La liste serait bien trop longue, et j'oublierais forcément du monde mais cette thèse n'aurait pas existé sans votre contribution !

J'adresse ma plus grande reconnaissance à mes trois directeurs de thèse, Bernd, Laurent et Marc pour m'avoir fait confiance pour mener ce projet. Merci pour tout le temps que vous m'avez consacré, merci pour votre disponibilité et pour vos conseils. Ces trois ans passés à travailler avec vous m'auront été très riches en enseignement.

Merci Marc pour les discussions très enrichissantes sur le monde des champignons mycorhiziens, pour ta patience, et pour avoir été toujours accessible, même quand je débarquais en coup de vent à l'improviste !

Merci Bernd pour ta gentillesse, ton organisation et ta bonne humeur à toute épreuve, même après les heures de route, une centaine de carottes de sol prélevées et quelques tonnes de branches et de feuilles à trimballer sur deux hectares !

Merci Laurent pour ton écoute, ton efficacité (merci pour tes relectures de chapitres à 23h passées) et pour ton enthousiasme permanent. Je te suis très reconnaissante ton implication sans faille, notamment dans ma recherche de pistes pour l'après FCPR.

L'ensemble de mes résultats de thèse ont nécessité un nombre monstrueux d'échantillons à préparer, conditionner et analyser (4280 pour la première année !....). Toute ma gratitude à Marie-Clotilde, Christine, Joseph, Cyril, Léa, Séverine et Héma qui ont eu à dompter la cohorte d'échantillons de sol du réseau MOS, et qui ont constitué un soutien technique inestimable, en forêt comme au labo. Merci à Pierrick d'avoir fait son stage de Master 2 avec moi malgré la charge de travail et les journées de manip' assez épiques !

Une mention spéciale pour Cyrille qui a pu se rendre disponible de nombreuses fois pour m'accompagner pour les prospections de sites, les campagnes de prélèvement, d'inventaires, etc. Merci pour ton efficacité et ta patience face aux plans d'expérience aux 100 modalités fois 50 répétitions... Mais ça a fini par marcher !

Je voudrais exprimer tous mes remerciements à l'ensemble des équipes BEF et Ecogénomique qui m'ont accueillie durant ces trois années.

J'adresse une pensée particulière pour Célia et Philippe, mes collègues de bureau qui ont supporté l'agitation ambiante de ma fin de rédaction de thèse. Un grand merci, Philippe, pour tes contributions indispensables à ma thèse, et pour avoir toujours répondu à mes « SOS » en statistiques. Un grand merci également à Gil, Mélanie, Jérémie, Nicolas et Maximilien pour votre bonne humeur permanente qui m'a été d'un grand grand secours durant ces derniers mois, et bien plus encore ces deux dernières semaines de rédaction !

Enfin, je témoigne ma plus profonde reconnaissance à ma famille, pour leur soutien et leur présence sans faille, depuis toujours.

Table des matières

Préambule	1
I. CHAPITRE I : INTRODUCTION GENERALE	5
1. La forêt française, un maillon de la situation énergétique actuelle	5
1.1 Contexte énergétique	5
1.2 Ressource forestière et filière bois	6
1.3 Les rémanents, une ressource supplémentaire de biomasse disponible	8
2. Les sols forestiers, fertilité et diversité	11
2.1 Services écosystémiques rendus par les sols forestiers	11
2.2 Fertilité des sols forestiers	11
2.2.1 Définition	11
2.2.2 <i>Les cycles biogéochimiques</i>	13
2.3 Les acteurs de la fertilité biologique	14
2.3.1 Une chaîne d'organismes décomposeurs	14
2.3.2 Les grands groupes fongiques forestiers	15
2.3.3 <i>Importance des communautés fongiques dans le recyclage des matières organiques</i>	17
3. Synthèse : impacts du prélèvement des rémanents sur l'écosystème	19
3.1 Importance du rôle écologique du bois mort au sol	19
3.1.1 <i>Un réservoir de minéralomasse</i>	19
3.1.2 <i>Un réservoir de biodiversité</i>	20
3.2 Impacts du prélèvement des rémanents sur la fertilité et la productivité des sols.....	22
3.2.1 <i>Effets des prélèvements de biomasse forestière sur la richesse chimique des sols forestiers</i>	22
3.2.2 <i>Effets des prélèvements de biomasse forestière sur la productivité des peuplements</i>	26
3.3 Impacts du prélèvement des rémanents sur la diversité spécifique et fonctionnelle	27
3.3.1 <i>Rôle des communautés microbiennes, réponses aux perturbations de leur environnement et redondance fonctionnelle</i>	27
3.3.2 <i>Effets des prélèvements de biomasse forestière sur la biodiversité bactérienne et fongique</i>	29
3.3.3 <i>Cas des autres groupes taxonomiques</i>	31
3.3.4 <i>Effets des prélèvements de biomasse forestière sur le fonctionnement biologique des sols</i>	34
3.4 Récapitulatif- conclusion.....	35
4. Objectifs	37
5. Références	39
II. CHAPITRE II : Mise en place d'un réseau de suivi sur le long terme : Prise en compte de la variabilité locale	48
1. Description et enjeux du réseau Matières Organiques des Sols	50
1.1 Objectifs	50
1.2 Descriptif du dispositif	51
1.3 Choix et prospection des sites	52
1.3.1 <i>Critères sylvicoles et pédoclimatiques de sélection des sites MOS</i>	52
1.3.2 <i>Localisation et caractéristiques des sites feuillus</i>	55

1.3.3	<i>Prise en compte de l'évolution prédite des aires de répartition des essences forestières à l'horizon 2100</i>	57
2.	Prise en compte de la variabilité locale des sols en amont de l'installation du dispositif	59
2.1	Cas des réseaux existants de suivi des écosystèmes forestiers	60
2.2	Recherche d'un outil efficace dans la caractérisation de la variabilité intra-site : utilisation de la spectroscopie infrarouge	61
3.	Article n°1	63
4.	Utilisation complémentaire de la spectrométrie NIRS-MIRS dans le cadre de la caractérisation initiale des sites MOS	86
4.1	Calibration entre les données spectrales et les concentrations en carbone et azote pour les sols et la litière	86
4.1.1	<i>Elaboration d'un modèle statistique prédictif</i>	86
4.1.2	<i>Résultats</i>	87
4.2	Cartographie des teneurs en carbone et azote à partir des analyses spectrométriques	88
5.	Références	90
III. CHAPITRE III : Facteurs environnementaux et structure des communautés fongiques des sols forestiers, approche biogéographique dans un contexte de changements globaux		95
1.	Caractérisation la diversité fongique des sols	97
1.1	Les indicateurs de diversité	97
1.2	Les méthodes d'analyse moléculaire de la diversité fongique	98
1.2.1	<i>Principe de l'analyse biomoléculaire en écologie de communautés</i>	98
1.2.2	<i>Les méthodes de séquençage haut-débit : avancées et limites</i>	100
2.	Structure des communautés ectomycorhiziennes en fonction des paramètres environnementaux	102
2.1	Une diversité structurée par l'essence-hôte	102
2.2	Importance des facteurs édaphiques dans la structuration des communautés ectomycorhiziennes	103
2.3	Paramètres climatiques et diversité ectomycorhizienne	104
3.	Références	105
4.	Article n°2 :	109
IV. CHAPITRE IV : Identification des indicateurs fonctionnels des impacts des manipulations de matières organiques à très court terme sur les sols forestiers		135
1.	Estimation des prélèvements de biomasse et de minéralomasse sur les sites expérimentaux MOS	137
1.1	Mise en place des traitements in situ	137
1.2	Quantification de biomasse de litière et de rémanents prélevée	139
1.2.1	<i>Estimation de la quantité de litière par plateau</i>	139
1.2.2	<i>Estimation de la quantité de menus-bois par plateau</i>	140
1.3	Estimation de la minéralomasse exportée	141
1.3.1	<i>Estimation des quantités de carbone et d'azote exportées par le prélèvement des litières</i>	140
1.3.2	<i>Estimation des quantités d'azote et de minéraux exportées par le prélèvement des menus-bois : estimation à partir de la base de données EMERGE</i>	140
2.	Article n°3 :	143

V. CHAPITRE V : La nécromasse fongique peut-être être directe de nutriments pour les arbres forestiers ?	172
1. Capacités saprotrophes des champignons ectomycorhiziens	175
1.1 Statut trophique ambivalent des champignons ectomycorhiziens	175
1.2 Saprotrophie facultative saisonnière	175
1.3 Saprotrophie <i>in vitro</i> et en conditions de stress nutritif	176
2. Capacités chitinolytiques des champignons	177
2.1 La chitine et ses voies de dégradation	177
2.2 Utilisation de la chitine comme source de nutriments par les champignons	178
3. Références	180
4. Article n°4 :	182
VI. DISCUSSION & PERSPECTIVES :	198
1. Récapitulatifs des principaux résultats	200
2. Exportations de biomasse : quels effets à moyen terme ?	202
2.1 Dynamique des matières organiques des sols	202
2.2.1 <i>Cas des sites « chêne »</i>	202
2.2.2 <i>Cas des sites « hêtre »</i>	203
2.2.3 <i>Réponses contrastées et qualité des litières</i>	203
2.2 Distribution verticale de la diversité fongique	204
2.3 Modification, résilience ou redondance fonctionnelle des communautés	206
3. Comment évaluer les impacts des prélèvements de biomasse sur l'écosystème forestier	209
3.1 Un indicateur prenant en compte la dimension biologique et biochimique	209
3.2 Evaluation des exportations au cours des prochaines rotations	211
3.3 Effets indirects de la manipulation des litières et des rémanents	212
4. La spectrométrie NIR/MIR, un outil pertinent dans le cadre d'un réseau de suivi sur le long terme	212
5. Extrapolation aux peuplements résineux	214
6. Conclusion	215
7. Références	217

CHAPITRE I

INTRODUCTION GENERALE

Préambule

Notre époque est marquée par un changement profond de l'environnement, sur les plans climatiques, écologiques, économiques et sociétaux. Ces mutations globales, considérablement accélérées depuis le milieu du XX^{ème} siècle, se heurte à la limitation des ressources naturelles et aux impacts du modèle de développement actuel sur l'équilibre des écosystèmes terrestres, aquatiques et atmosphériques. Elles soulèvent la nécessité de considérer ces évolutions et ces limites dans la dynamique de développement des sociétés humaines (Steffen et al., 2015a, 2015b). Le développement durable prend une place toujours croissante au sein des préoccupations françaises et européennes, des citoyens jusqu'aux gestionnaires et aux décideurs politiques et commence à s'intégrer dans les marchés internationaux, notamment à travers la notion de services écosystémiques (Costanza et al., 1997 ; Dominati et al., 2010). Les avertissements lancés par la communauté scientifique (GIEC, 2014), et relayées par les ONG écologistes (le réseau Climate Action Network au niveau mondial par exemple), ont amorcé une prise de conscience dans les pays occidentaux et émergents autour des problématiques de réchauffement et de modifications climatiques, ainsi que des extinctions d'espèces. Ils soulignent de l'impératif de développer une économie autour des matières premières renouvelables (European Bioeconomy Panel, 2014). L'augmentation et la volatilité considérable du prix des énergies fossiles, ainsi que l'épuisement inexorable de ces gisements (Garcia-Martos et al., 2013 ; Rhodes, 2015), poussent les politiques publiques à s'orienter vers les énergies renouvelables. La forêt constitue un des secteurs les plus concernés par ces nouvelles orientations. L'engouement pour les constructions en matériaux bois et le développement de la filière biomasse, dont une large part correspond au bois-énergie impliquent de nouvelles pressions sur les écosystèmes forestiers.

Les terres boisées représentent 30% des terres émergées d'après les estimations de la FAO (FAO, 2015). En plus de la production de bois, les forêts tiennent un rôle social et culturel essentiel auprès des populations. Menacées par la constante déforestation à l'échelle mondiale, elles constituent une réserve de biodiversité végétale, microbienne et animale, et interviennent en tant que puits de carbone essentiel, notamment dans les territoires tropicaux et boréaux (Canadell & Raupach, 2008). A l'inverse de la dynamique négative globale, la forêt européenne est en constante expansion, s'étendant de 0.8 millions d'hectares par an

depuis les vingt dernières années (MCPFE, 2011)¹. Dans de telles circonstances, la gestion forestière doit s'adapter à la fois à la demande économique et sociétale mais aussi à la volonté de conserver la valeur patrimoniale des forêts. Les enjeux actuels du gestionnaire forestier sont donc autant économiques qu'environnementaux et socio-culturels. Pour faire face à la demande croissante en bois, et en particulier en bois-énergie, plusieurs options sont envisageables : le développement des cultures dédiées de type taillis à courte ou très courte rotation (TCR, TTCR) (Bastien et al., 2011) ; l'intensification des prélèvements dans les massifs actuels en augmentant les volumes récoltés et/ou en raccourcissant les rotations (Ranger et al., 2002 ; Laclau et al., 2005) l'exploitation de ressources ligneuses non utilisées comme les rémanents de coupe, déjà récoltés en forêt tropicale, en Europe du nord ou aux Etats-Unis (Nambiar et al., 2004 ; Fritts et al., 2014 ; Tarvainen et al., 2015). L'intensification des exportations de biomasse forestière, et en particulier la récolte des rémanents interroge les sylviculteurs sur la préservation de la fertilité des sols forestiers et de leur fonctionnement biologique (Nambiar et al., 2008 ; Versini et al., 2014 ; Achat et al., 2015). Les branches et les résidus de coupe correspondent à un réservoir de minéralomasse qui retourne au sol et participent de la fertilité des sols par recyclage des matières organiques (Ponette et al., 2001).

La nécessité d'une gestion durable des sols en agronomie et en foresterie interpelle de plus en plus les gestionnaires des différentes filières. La notion de services rendus par les écosystèmes ou *services écosystémiques* permet de mettre en lumière le rôle des sols au-delà de la production brute de biomasse végétale et de support. Elle permet d'introduire dans les politiques de gestion des sols les thématiques concernant l'importance des sols pour la qualité des eaux continentales, le maintien de la fertilité des sols, la séquestration du carbone par incorporation des matières organiques et leur rôle de réservoir de biodiversité. Ces questions sont particulièrement prégnantes au sujet des sols forestiers et préoccupent les acteurs de la filière depuis plusieurs décennies. Les problématiques d'acidification des sols suite aux enrésinements massifs et aux pluies acides, dans les années 1970, puis de changement climatique et de dépérissement, donnent naissance en Europe aux premiers dispositifs expérimentaux de suivi sur le long terme des écosystèmes forestiers. En France, cette prise de conscience a conduit notamment à l'élaboration d'un réseau de suivi de la santé des forêts en 1989 sur 520 placettes permanentes², puis en 1992, à la création du réseau RENECOFOR (Réseau National de suivi à long terme des ECOsystèmes FORestiers) (Cluzeau et al., 1998).

¹ Rapport de 2011 *Ministerial Conference on the Protection of Forest in Europe*

²Coordonné par le Département de la Santé des Forêts, service technique du MAAF, (<http://agriculture.gouv.fr/sections/thematiques/foret-bois/sante-des-forets>)

L'intensification de la mécanisation de l'industrie forestière pose aussi question aux gestionnaires forestiers et motive la mise en place d'études d'impacts sur le long terme. Ainsi, les sites expérimentaux en Fennoscandie ont déjà un recul d'une quarantaine d'années sur les impacts des exportations intensives de biomasse sur la fertilité et la biodiversité des sols forestiers (Hemilsaari et al., 2011). Le réseau CIFOR (Center for International Forest Research), mis en place en zone tropicale depuis 1998 (Nambiar et al., 1999) et les dispositifs LTSP (Long-Term Soil Productivity) installés en Amérique du Nord en 1995 (Powers et al., 2005) suivent ces mêmes thématiques depuis une vingtaine d'années. Les récentes volontés des politiques publiques françaises d'accroître la part des énergies renouvelables et du bois-énergie, faisant suite aux recommandations Grenelle de l'Environnement et de la directive européenne 2009/28/CE, soulèvent la nécessité d'un dispositif similaire adapté au contexte biogéographique et aux pratiques sylvicoles des forêts françaises.

L'élaboration d'un réseau de suivi sur un pas de temps supérieur à vingt ans et avec une couverture nationale implique de nombreuses difficultés dans le choix pertinent des sites, des modalités à tester et la caractérisation initiale des écosystèmes étudiés. L'enjeu de ce réseau est d'évaluer les impacts de différentes modalités de prélèvement de biomasse sur les cycles biogéochimiques des sols forestiers d'une part, et sur leur biodiversité fongique, actrice majeure de leur fonctionnement biologique d'autre part. Ce travail de mise en place d'un réseau permanent a constitué le socle fondateur de cette thèse, depuis la prospection des sites jusqu'à l'identification d'indicateurs des premiers effets d'une exportation de biomasse à très court terme. Il s'articule autour de trois objectifs principaux :

- Comment s'affranchir de la variabilité spatiale initiale dans la mise en place de traitements expérimentaux à l'échelle d'une parcelle de plusieurs hectares ?
- Quels facteurs environnementaux structurent les communautés fongiques des sols forestiers à l'échelle régionale : les champignons ectomycorhiziens répondent-ils différemment aux paramètres édaphiques et climatiques ?
- Quels sont les impacts des prélèvements de bois mort et de litière sur les réseaux trophiques en forêts : exporter les rémanents peut-il agir sur les cycles biogéochimiques et sur la nutrition minérale des arbres ?

Ces questions seront abordées à la fois par des approches *in situ* sur les sites expérimentaux et en conditions contrôlées pour décrypter les interactions entre bois mort et réseau trophique. Cinq parties de ce manuscrit traiteront ces problématiques.

Une **première partie introductive** synthétisera les connaissances actuelles sur la filière forestière et les effets d'une évolution des pratiques sylvicoles sur la productivité et la diversité des sols forestiers.

Le **deuxième chapitre** présentera le dispositif expérimental ainsi que l'outil élaboré afin de caractériser la variabilité spatiale des sols à l'échelle du site expérimental. Faisant appel aux méthodes d'analyses par spectrométrie infra-rouge, cet outil permet de cartographier l'hétérogénéité locale des sols afin d'éviter toute interaction entre cette variabilité et la disposition des traitements expérimentaux en amont de leur mise en place.

Le **troisième chapitre** se concentrera sur les facteurs structurant les communautés fongiques des sols à l'échelle du réseau. De par leur étroite association en symbiose avec les arbres forestiers, les champignons ectomycorhiziens pourraient répondre aux paramètres édaphiques et climatiques différemment des autres champignons du sol. Ils feraient alors preuve d'une sensibilité similaire à celle des essences hôtes, se comportant comme un phénotype étendu de l'arbre.

Le **quatrième chapitre** développera l'utilisation d'indicateurs des premières tendances d'impacts à très court terme après exportation de biomasse sur les sites expérimentaux. Ces outils permettront d'identifier les effets des traitements au niveau des cycles biogéochimiques et biologiques.

Le **cinquième chapitre** s'intéressera aux effets éventuels d'une exportation de bois mort sur les réseaux trophiques entre champignons saprotrophes, champignons mycorhiziens et plante hôte. L'abondance des mycéliums de champignons ectomycorhiziens dans le bois mort ainsi que les capacités de certaines espèces à dégrader la nécromasse fongique laissent suggérer que le bois mort constituerait une nutritive directe pour les arbres. Ces interactions au sein des réseaux trophiques feront l'objet d'une manipulation en conditions contrôlées par traçage isotopique entre les différents éléments de ces réseaux.

Un **dernier** chapitre synthétisera et discutera les résultats apportés par chacune des précédentes parties. Il s'ouvrira sur les perspectives et les éléments à considérer pour le suivi de ce projet.

I. INTRODUCTION GENERALE

1. La forêt française, un maillon de la filière énergétique actuelle

1.1 Contexte énergétique

Dans le contexte actuel, la lutte contre le changement climatique constitue un enjeu politique, socio-économique et écologique majeur. Cette situation pousse les pouvoirs publics à s'engager dans la réduction des émissions de CO₂ et de gaz à effets de serre, en diminuant la consommation des énergies fossiles. Un des leviers principaux consiste à encourager le développement du marché des énergies renouvelables, amorçant une transition énergétique tout en faisant face à la raréfaction et à la hausse des prix des énergies fossiles.

Le cadre du Grenelle de l'Environnement et de la directive européenne 2009/28/CE ont fixé comme objectif d'atteindre 23% d'énergies renouvelables dans la consommation totale énergétique finale métropolitaine pour 2020 soit une mobilisation de 20 Mtep d'énergies renouvelables supplémentaires entre 2006 et 2020³. En 2013, la part des énergies renouvelables dans la consommation finale brute d'énergie française était de 14,2 % en 2013. Afin de respecter au mieux ses engagements, la France oriente ses politiques publiques en faveur du développement du marché des énergies renouvelables et s'appuie particulièrement sur la filière biomasse. Cette dernière, issue de la forêt, de cultures énergétiques agricoles dédiées et de sous-produits d'agriculture, est la principale filière contributrice à la réalisation de cet objectif puisqu'elle représente la moitié de la production d'énergie renouvelable métropolitaine⁴. Pour l'année 2011, le bois-énergie seul comptait pour 46% de la production primaire totale d'énergie renouvelable en France, essentiellement pour la filière de l'énergie thermique pour laquelle il représente 79% de la consommation finale d'énergies renouvelables à des fins de production de chaleur⁵. Plusieurs projets à échelle nationale comme le Fonds Chaleur ou le programme « 1000 chaufferies bois » promeuvent l'utilisation de bois comme principale source énergétique. La filière bois-énergie comprend la consommation sous forme de bois-bûche, pellets, plaquettes forestières et bûches reconstituées.

³ Rapport de la journée « Cellule Biomasse », janvier 2012

⁴ Rapport Bio2. Biomasse et diversité forestière, MEEDDM-ECOFOR, juillet 2009

⁵ Chiffres clés des énergies renouvelables, juin 2013, MEDDE-SOES

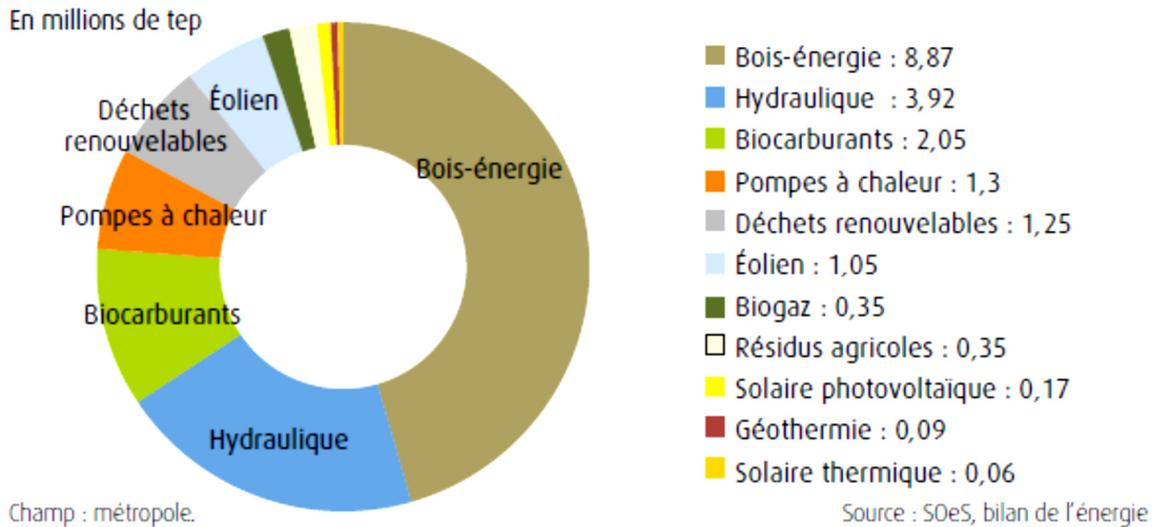


Figure I.1 : Production primaire d'énergies renouvelables en 2011 par filière en France métropolitaine (19,5 Mtep en 2011) (source : SOeS)

La réalisation de cet objectif énergétique fixé par les décisions publiques passera par une augmentation des mobilisations et des productions de biomasse forestière : une récolte supplémentaire de 10 Mm³ était proposée par le Programme Forestier National pour développer la filière bois-énergie ; le Grenelle de l'Environnement avait préconisé une récolte supplémentaire de 12 Mm³ pour 2012 et de 20 Mm³ pour 2020, la récolte actuelle de bois (hors forêt inclus) étant estimée à 65 Mm³ en 2009 (Landmann et al., 2009)⁶.

1.2 Ressource forestière et filière bois

Depuis le début du XX^{ème} siècle, la forêt française est en forte expansion, en particulier dans les zones rurales et montagnardes touchées par la déprise agricoles (Fontes-Rousseau, 2015)⁷. On considère que le territoire forestier s'accroît en moyenne de 50 000 ha par an. Elle appartient principalement à des propriétaires privés qui en détiennent 75% de la surface, le reste se partageant entre forêts domaniales et forêts des collectivités.

La France détient la 4^{ème} ressource forestière de l'Union Européenne en termes de surface boisée, qui occupe 29% du territoire métropolitain⁸. 70% de la surface forestière est constituée de peuplements feuillus, dont une large majorité de chêne (pédonculé, sessile et pubescent) et de hêtre. Entre 2001 et 2010, l'IFN a estimé la production biologique totale à 85 millions de m³ par an, dont 60% d'essences feuillues et 40% d'essences résineuses⁵.

⁶ Récolte totale : volume rond sur écorce, comptabilisant l'autoconsommation et les arbres hors-forêt

⁷ Chiffres Agreste d'usage des sols 2014

⁸ Chiffres Agreste 2012

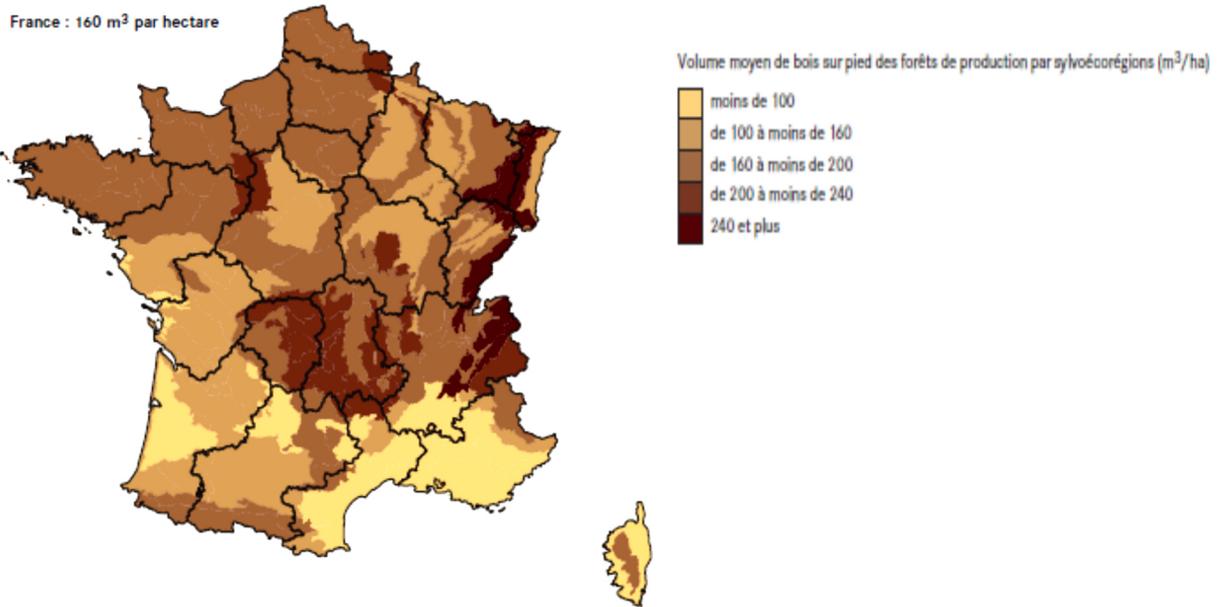


Figure I.2 : Stock de volume moyen de bois sur pied en m³/ha (source IGN 2012, campagne d’inventaires 2007-2011)

Les volumes de bois sur pied les plus importants sont essentiellement situés dans les forêts de montagne, où les difficultés d’accessibilité freinent la mobilisation des stocks de bois.

En 2010, 58 millions de m³ (bois rond sous écorce) ont été récoltés en forêt, plaçant la France à la seconde place des récoltes de bois dans l’Union Européenne. La filière donne priorité au bois d’œuvre et au bois d’industrie qui représentent 60,5 % des volumes de bois récolté, même si les récoltes à des fins énergétiques sont de plus en plus encouragées. En comptabilisant la part de l’autoconsommation qui concerne surtout le bois de chauffage et s’élève à 18,5 Mm³, la France atteint la première place de l’UE quant à la part du bois-énergie dans la récolte de bois totale⁵.

Volumes de bois commercialisés pour l'année 2010 (Mm3)
total: 57,7 Mm3

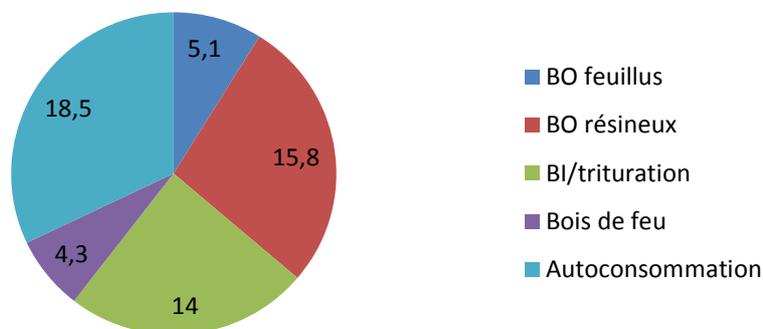


Figure I.3 : Répartition par secteur des volumes de bois commercialisés pour l’année 2010 (d’après le rapport du comité du bois, Commission économique pour l’Europe des Nations Unies, septembre 2011)

Pour exemple, dans les régions très boisées du Grand Nord-Est, les volumes de bois récoltés et commercialisés à destination de la filière bois-énergie (hors autoconsommation) ont augmenté de 73% en Bourgogne, de 143% en Lorraine et de 207% en Champagne-Ardenne entre 2008 et 2012⁹.

Pour répondre à cette pression récente qui pèse sur une filière bois-énergie encore peu structurée, on risque d'assister à une modification des pratiques sylvicoles : prélèvement accru d'arbres plus jeunes, raccourcissement des rotations, développement des cultures dédiées de type TCR/TTCR, récolte par arbres entiers. On peut déjà observer ce type de pratiques dans les forêts allemandes et nordiques, sur des peuplements résineux ou feuillus à croissance rapide.

En Suède, l'amorçage de la transition énergétique a commencé au début des années 70 avec un soutien politique et financier au développement du marché des énergies renouvelables (Ericsson et al., 2003). La part des énergies renouvelables s'y élève à 52% de la consommation brute finale d'énergie pour l'année 2013, et 30% de la consommation énergétique suédoise totale est fournie par la filière biomasse¹⁰. La filière bois-énergie est plus développée qu'en France, notamment à travers la récupération des déchets et produits connexes de scieries et des industries forestières. Néanmoins, les forêts et les sylvicultures employées ne sont pas comparables : le couvert forestier s'étend sur 68,7%¹¹ du territoire suédois majoritairement constitué de plantations résineuses et exploité de façon intensive et mécanisée.

1.3 Les rémanents, une ressource supplémentaire de biomasse disponible

En France, la contribution de la filière forêt-bois au marché énergétique est supportée principalement par les prélèvements forestiers et les cultures dédiées telles que les TCR et TTCR, même si d'autres sources de biomasse ligneuse sont sollicitées : peupleraies, produits connexes des scieries et des industries du bois, bois issus d'arbres hors forêt (haies bocagères, arbres urbains, alignement, etc.) (Landmann et al., 2009). La part des menus-bois et des rémanents d'exploitation constituent aussi une ressource potentielle de biomasse forestière non comptabilisée dans les volumes récoltés et encore peu en concurrence avec les autres secteurs utilisateurs de bois, bien que leur volume disponible demeure difficile à évaluer.

⁹Source : Enquête Annuelle de Branche, DRAAF, 2012

¹⁰Source : Eurostat 2014

¹¹Chiffres Agreste 2012

Définition des rémanents

Au cours des années et selon les pays, la définition des rémanents varie. Les rémanents d'exploitation forestière correspondent aux résidus de coupe et aux produits connexes laissés sur place après coupe qui n'appartiennent à aucun marché de commercialisation. Ils comprennent les débris après coupe, les menus bois (diamètre inférieur à 7 cm), les branches de diamètre supérieur à 7 cm non valorisables, les petites tiges n'atteignant pas le diamètre marchand (Landmann et al., 2013). Le feuillage est aussi à prendre en considération, en particulier dans le cas des résineux, ainsi que les souches, utilisables comme ressource énergétique dans le cas de prélèvement par arbre entier comme effectué dans les pays nordiques. En France, le dessouchage est limité aux exploitations dans les Landes. La part principale de rémanents exploitables correspond au houppier, qui représentent 38% du volume aérien total chez les essences feuillues et 25% chez les essences résineuses (Landmann et al., 2009). Sur des peuplements résineux en Suède (pins et épicéas principalement), il a été estimé que la récolte des souches, des résidus de coupes, des houppiers et des jeunes tiges non commercialisables fournirait une ressource supplémentaire de 17% (Björheden, 2006). Environ 20% des rémanents d'exploitation y sont récupérés après coupe (Ortiz et al., 2014).

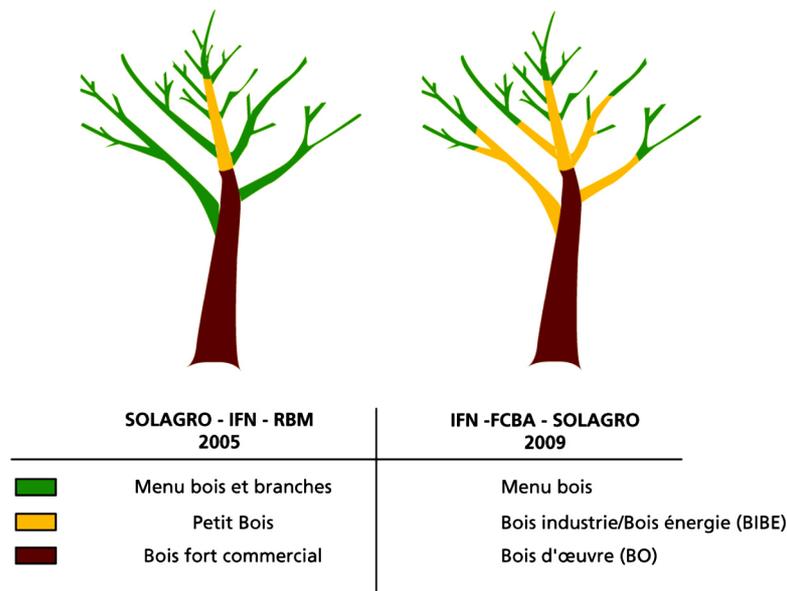


Figure 1.4 : Evolution de la définition des compartiments de biomasse par l'ADEME entre 2005 et 2009 (Landmann et al., 2009)

A l'échelle nationale, des études estiment entre 4 et 8 Mm³/an les volumes additionnels effectivement mobilisables en menus bois, essentiellement en feuillus, en tenant compte des

conditions d'exploitabilité, de rentabilité et de sensibilité du milieu (Ginisty et al., 2009 ; Colin et al., 2009 *in* Landmann et al., 2013).

La part des rémanents effectivement mobilisée en France est difficile à évaluer précisément du fait de la fraction de volume autoconsommé et des modes d'exploitation. Pour des raisons de rentabilité des opérations, la plupart des volumes de rémanents est prélevée par le biais de récolte par arbres entiers et non par un chantier séparé, ce qui rend peu aisée l'estimation des quantités extraites. Sur les chantiers d'exploitation des résidus de coupe, environ 60% du volume de rémanents serait exporté. Bien qu'ils représentent encore une faible fraction dans la production de plaquettes forestières, dont la ressource première correspond aux houppiers, aux tiges de 1^{ère} éclaircie et aux réserves de vieux TSF, les menus-bois constituent le principal gisement de ressource mobilisable pour la filière bois-énergie, notamment en forêt publique (Achat et al., 2015). Il se pose alors la question des modes d'exploitabilité et de la rentabilité effective de telles pratiques pour la filière. Pour être efficace, la récolte des rémanents nécessiterait une mécanisation importante des prélèvements, qui risque d'impacter fortement les sols forestiers, notamment par tassement.

L'exportation de biomasse consécutive à l'exploitation des rémanents pose la question du retour au sol de nutriments et d'éléments minéraux issus de leur dégradation, ce qui pourrait altérer à plus ou moins long terme la fertilité chimique et biologique des sols concernés. De plus, de nombreuses études ont montré l'importance du bois mort au sol en tant que niche écologique et que réservoir de biodiversité.

Un guide de gestion raisonnée des rémanents à destination des gestionnaires forestiers a été publié par l'ADEME en 2006 afin de proposer, sous forme d'une typologie, des pistes pour une récolte des rémanents adaptée à la sensibilité chimique et physique des sols et au type de peuplement (Cacot et al., 2006). Néanmoins, dans ce guide, les seuils de sensibilité sont principalement sur la composante chimique de la fertilité des sols et la conservation de la biodiversité inféodée au bois mort n'est pas évoquée dans les préconisations de préservation de l'écosystème. Le rapport Resobio publié en 2013 et la revue d'Achat et al. (2015) complètent ce guide par une synthèse très détaillée des impacts des prélèvements des rémanents sur les écosystèmes forestiers en introduisant notamment la dimension biologique qui faisait défaut dans le guide de 2006.

2. Les sols forestiers, fertilité et diversité

2.1 Services écosystémiques rendus par les sols forestiers

Depuis plusieurs décennies, les gestionnaires forestiers ont réalisé la nécessité d'adapter les pratiques sylvicoles pour assurer la pérennité de la productivité des sols forestiers. Les forêts sont en très large majorité installées sur des sols peu aptes à l'agronomie, acides et sensibles. Le réseau de mesure de qualité des sols a montré qu'à l'échelle de la France métropolitaine, la plupart des sols forestiers ont un pH compris entre 4.5 et 6, avec un pH moyen de 4.9 contre 7.4 pour les sols agricoles cultivés. La préservation des sols forestiers constitue un enjeu majeur au vu des services écosystémiques rendus, depuis la production de bois jusqu'au rôle de puits de carbone. Ils assurent la fonction de support de la production de biomasse et d'habitat pour de nombreux groupes taxonomiques. Au-delà de l'importance socio-économique de la production de bois à destination de la filière bois, les écosystèmes forestiers interviennent dans la régulation de la qualité de l'air par interception des particules polluantes. Le rôle des sols dans la préservation de la qualité des eaux douces sont aussi de plus en plus pris en considération par les scientifiques et les décideurs publics. L'occupation des sols par les peuplements forestiers contribuent enfin à la protection mécanique des sols, les préservant de l'érosion notamment grâce à la couverture des litières¹².

Au sein des écosystèmes continentaux, les forêts constituent un des principaux puits de carbone, séquestré en majeure partie dans les sols dans le cas des zones tempérées et boréales, stocks alimentés par les retours au sol de résidus organiques (Malhi et al., 1999 ; Lal, 2005). Sur le territoire français métropolitain, les forêts séquestrent près des deux tiers du carbone, dont plus de la moitié dans les sols (Dupouey et al., 2000 ; rapport Carborfor, 2004).

2.2 Fertilité des sols forestiers

2.2.1 Définition

La fertilité des sols est définie comme la capacité d'un sol à assurer une production végétale et se structure selon trois composantes :

-une **composante physique**, liée à la structure du sol (état d'agrégation, porosité), à sa texture, à sa profondeur, à sa densité apparente et à sa résistance. De ces propriétés vont

¹² UICN France (2013). Panorama des services écologiques fournis par les milieux naturels en France - volume 2.1 : les écosystèmes forestiers. Paris, France

dépendre les réserves en stocks d'éléments minéraux, les réserves en eau disponible, l'aération du sol ou encore la capacité d'enracinement des végétaux présents.

- une **composante chimique** qui dépend de la capacité du sol à stocker et recycler les nutriments. Elle comporte la réserve disponible en éléments nutritifs indispensables à la croissance des plantes : **C, N, P, S**, les cations échangeables, **Ca, Mg et K** ainsi que les oligo-éléments métalliques. Elle intègre également les flux assurant les transferts, issus du sol, du recyclage des composés organiques et des dépôts atmosphériques.

- une **composante biologique** liée à la diversité biologique et fonctionnelle de l'environnement, portée par la macrofaune et les microorganismes du sol, et aux processus associés comme la dégradation des matières organiques ou l'altération biologique des minéraux.

Ces trois composantes de la fertilité sont en étroite interaction et contribuent à différents niveaux d'importance selon la richesse chimique initiale du sol. Les sols pauvres chimiquement sont tributaires du fonctionnement biologique de l'écosystème, en particulier du recyclage des matières organiques. Au contraire, les sols disposant d'une réserve suffisante en éléments minéraux, la composante géochimique (notamment via l'altération des minéraux) assure une grande résilience de l'écosystème aux pressions éventuelles de la gestion.

Enfin, la réserve en eau du sol est un paramètre essentiel à considérer dans la description de la fertilité des sols forestiers puisqu'elle constitue une condition à la disponibilité des nutriments à destination des plantes dans les solutions de sol.

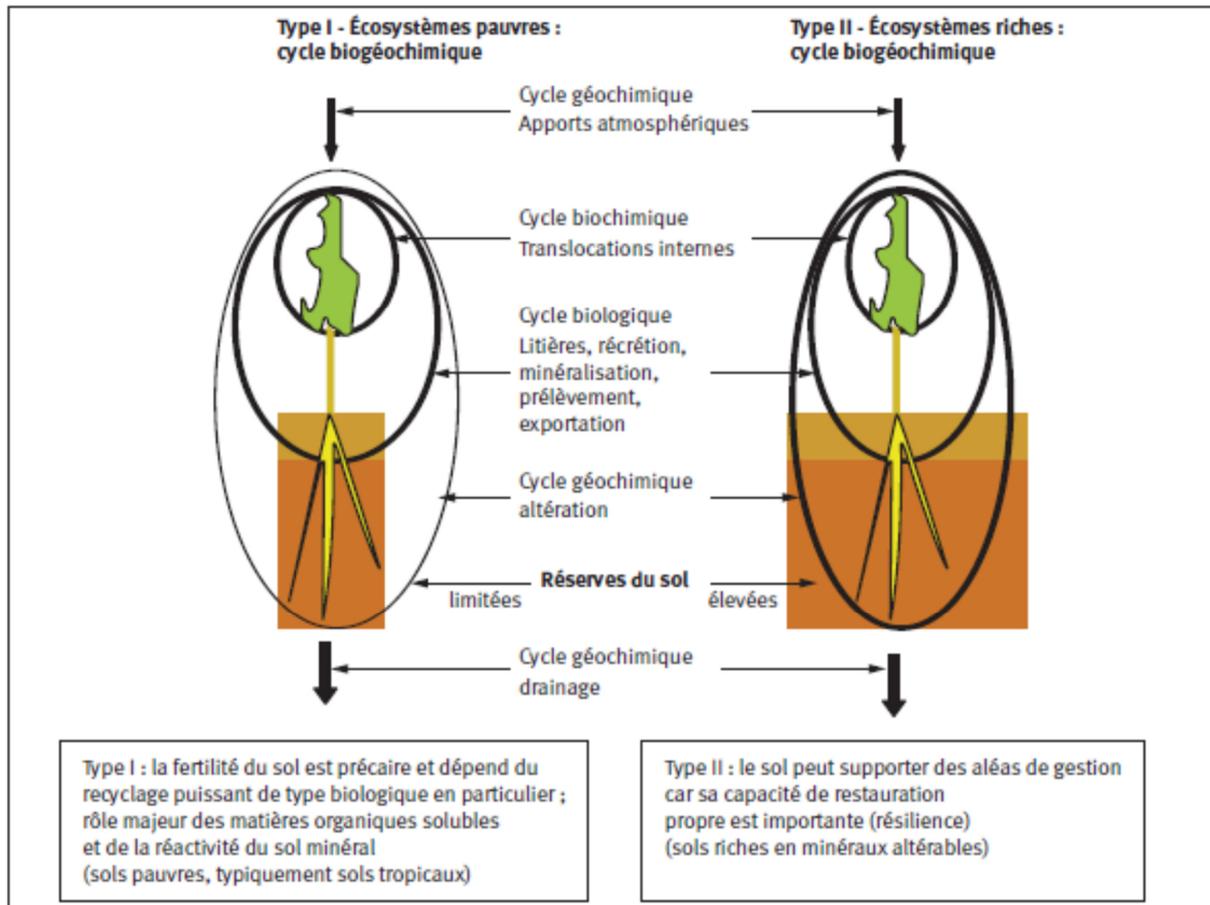


Figure I. 5 : Effet de la richesse du sol sur la hiérarchie entre cycle biologique et cycle géochimique (Ranger et al., 2011)

2.2.2 Les cycles biogéochimiques

Un cycle biogéochimique se définit comme l'ensemble des flux d'éléments minéraux circulant entre les horizons du sol prospectés par les racines et les plantes, comportant des entrées et des sorties (Ranger et al., 1995).

Plusieurs processus sont à l'origine des principales « entrées » des éléments minéraux dans les cycles biogéochimiques :

- les **dépôts atmosphériques** constituent un apport extérieur au compartiment « sol-appareil racinaire-plant », particulièrement important dans le cas du calcium, magnésium et potassium. L'azote atmosphérique peut aussi être capté par des microorganismes fixateurs d'azote de type *Frankia*, en symbiose avec les Aulnes ou bactéries à nodosités associées aux Fabacées, le mettant à disposition des végétaux.

- l'**altération** de la roche-mère libère des éléments minéraux sous forme d'ions.

- le retour au sol des chutes de feuilles, d'aiguilles, de bois mort et de divers composés organiques forme la couche de litière au sol qui représente une source majeure de nutriments. La litière fournit notamment la plus grande part d'azote mobilisable et de potassium (Ranger & Bonneau, 1984). La minéralisation des litières permet la reconstitution du pool des éléments nutritifs (Ranger et al., 1995). C'est aussi une source essentielle de phosphore, calcium et magnésium.

- le retour par **pluiolessivage** est particulièrement important dans le cas du potassium, présent majoritairement sous forme soluble.

Une partie de ces éléments sont immobilisés au sein des différents compartiments ligneux des arbres. Les sorties des cycles biogéochimiques correspondent en une grande part aux exportations de biomasse par la récolte des arbres. Une faible perte des éléments est causée par le drainage en profondeur mais il reste compensé par les apports atmosphériques (Ranger et al., 1995).

2.3 Les acteurs de la fertilité biologique

2.3.1 Une chaîne d'organismes décomposeurs

Les éléments nutritifs du sol ont notamment pour origine l'altération minérale, l'apport par dépôts atmosphériques, les fixations symbiotiques et la minéralisation des matières organiques du sol. Cette phase de décomposition des composés organiques végétaux ou animaux implique un large cortège d'organismes du sol. La **macrofaune** intervient en premier lieu dans la décomposition du bois, des détritux végétaux (litières foliaires, etc.) et de la nécromasse animale, stocks majeurs d'éléments nutritifs en forêt. Une succession d'Insectes, de macro-arthropodes et de vers de terre (Lombricidés) assure l'étape de fragmentation des composés ligneux et cellulosiques, auxquels succède la **mésafaune** (organismes de taille supérieure à 2 mm), essentiellement des Enchytréides, Collemboles et Acariens. Le processus de fragmentation des litières par la macro et mésofaune permet d'augmenter la surface de contact entre les organismes décomposeurs et le substrat et facilite ainsi sa colonisation par les microorganismes du sol et des litières.

La phase suivante, caractérisée par les transformations biochimiques des produits de la fragmentation, fait appel aux microorganismes, parmi les groupes les plus abondants et les

plus diversifiés dans le sol. La **microfaune** (taille de l'ordre du μm) rassemble de nombreux taxons encore peu connus, parmi les Protozoaires et les Nématodes (Barrios, 2007).

L'Observatoire national de la biodiversité estime à 1 million par gramme le nombre d'espèces bactériennes différentes présentes dans un sol de France métropolitaine. Les **bactéries** seraient jusqu'à 1000 fois plus abondantes que les champignons en terme d'ARNr dans un sol forestier (Uroz et al., 2013). Les communautés bactériennes remplissent un rôle prépondérant dans les cycles des éléments nutritifs des sols. Dans le cas du cycle de l'azote, certaines participent activement par la fixation de l'azote atmosphérique (fixation de N_2 par des bactéries symbiotiques de type *Rhizobium*) ou de la minéralisation de l'azote organique, comme les bactéries Nitrobacter et Nitrosomonas.

2.3.2 Les grands groupes fongiques forestiers

La **fonge** constituerait la plus grande part de la biomasse présente dans les sols forestiers (Baldrian et al., 2013). C'est un règne extrêmement diversifié divisé en sept grands Phyla (Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota, Glomeromycota, Blastocladiomycota, Neocallimastigomycota, Microsporidia) qui demeure à explorer (Hibbett, 2007). Néanmoins, malgré les manques de connaissance relatifs à certains groupes, il est possible de les différencier selon leurs traits écologiques, reliant ainsi les différents taxons à leur rôle fonctionnel au sein de l'écosystème des sols forestiers. Bien que certaines espèces présentes un statut trophique mixte (Tedersoo et al., 2010), on peut classer la flore fongique selon trois grands modes trophiques : les champignons **pathogènes**, les champignons **saprotrophes** et les champignons **symbiotiques**, ces deux derniers groupes étant les plus abondants dans les sols des forêts tempérées (Buée et al., 2009).

Au sein des **champignons symbiotiques** sont intégrées deux grandes catégories de champignons selon la nature du symbiote : les lichens, issus d'une association avec une cyanobactérie et les **champignons mycorhiziens**, associés aux plantes par la formation d'un organe mixte entre le champignon et les racines fines du végétal, les mycorhizes. On estime que 86% des plantes terrestres vivent en symbiose mycorhizienne (Tedersoo et al., 2010). Cette association mutualiste repose sur les échanges d'éléments nutritifs entre le champignon symbiotique et sa plante-hôte. Les mycorhizes permettent la nutrition minérale de l'arbre-hôte en augmentant la surface de contact de l'appareil racinaire avec le sol et en assurant les

transferts d'eau, d'azote et de phosphore vers la plante. En contrepartie, l'arbre fournit au champignon les sucres issus de la photosynthèse.

Il existe plusieurs types de mycorhizes, catégorisés selon leur morphologie : mycorhizes à arbuscules, ectomycorhizes, mycorhizes éricoïdes, ectendomycorhizes, mycorhizes orchidoïdes. Bien qu'à l'échelle mondiale les mycorhizes à arbuscules (Am) soient impliquées dans plus de 80% des symbioses (Mosse, 1973), les ectomycorhizes représentent le type de symbiose dominant dans les écosystèmes forestiers, notamment dans les biomes boréaux et tempérés (Dahlberg, 2001 ; Tedersoo et al., 2003). La symbiose ectomycorhizienne assure la nutrition des arbres appartenant aux familles les plus représentatives des forêts de l'hémisphère nord, tant résineuses que feuillues : Tiliacées, Betulacées, Fagacées, Pinacées, Abietacées (Tedersoo et al., 2010 ; Courty et al., 2010). Quelques genres forestiers typiques sont toutefois associés à des champignons mycorhiziens à arbuscules ou à endomycorhizes comme les espèces des genres *Acer*, *Alnus* ou *Salix*. Les associations ectomycorhiziennes impliquent jusqu'à plus de 20 000 espèces fongiques (Douhan et al., 2011), appartenant majoritairement au phylum des Basidiomycètes, excepté quelques genres importants d'Ascomycètes ectomycorhiziens tels que les *Tuber* ou les *Rhizopogon* (Tedersoo et al., 2010). Le système racinaire est la plupart du temps colonisé par plusieurs espèces mycorhiziennes qui sont partagées entre plusieurs arbres à l'échelle du peuplement, créant ainsi un réseau complexe (Massicotte et al., 1999).

Les champignons **saprotrophes** représentent le second grand groupe fongique des sols forestiers, en proportions similaires aux mycorhiziens (Buée et al., 2009 ; Buée et al., 2011). Ils sont néanmoins plus abondants dans les horizons supérieurs du sol (Lindhal et al., 2007). On distingue plusieurs types de champignons saprophytes selon leurs substrats et leurs voies métaboliques, qui participent de la dégradation et du recyclage des déchets organiques des sols. Les saprotrophes de litière et les champignons **humicoles** sont inféodés aux litières de feuilles et d'aiguilles et aux horizons de surface au niveau desquels ils se chargent de la dégradation des composés d'origine végétale, en particulier de la décomposition de la cellulose. Il est à noter la présence de **levures** Basidiomycètes dans le sol, capables de métaboliser les composés carbonés (sucres), parmi les plus abondants champignons saprophytes dans le sol (Buée et al., 2009).

La dégradation du bois est une des sources privilégiées de composés organiques mobilisables pour la nutrition des arbres en forêt, au même titre que le recyclage des litières. Elle fait appel à une succession de cortèges fongiques tout au long des processus de décomposition des

différents polymères du bois. Les **pourritures molles**, considérées comme les espèces pionnières de la dégradation du bois, décomposent la cellulose et les hémicelluloses. Les **pourritures blanches** leur succèdent et assurent la dégradation de la lignine, ainsi que les **pourritures brunes** dont les capacités métaboliques permettent une décomposition plus efficace des celluloses et hémicelluloses (Rajala et al., 2012). Présentes sur le bois mort debout ou au sol, ces espèces sont détectables dans les sols et constituent un acteur essentiel des cycles biologiques.

La diversité des sols agit également sur la fertilité physique en contribuant aux mécanismes de formation d'agrégats, qui font appel aux activités des vers de terre, des bactéries et champignons et de la rhizosphère (Barrios, 2007).

2.3.3 Importance des communautés fongiques dans le recyclage des matières organiques

Les champignons ont un rôle prépondérant dans les cycles biogéochimiques, notamment dans la dégradation des matières organiques, permettant ainsi le recyclage des ressources nutritives (Lindahl et al., 2007; Clemmensen et al., 2013). Les communautés fongiques ectomycorhiziennes, qui fournissent eau et nutriments à leurs plantes hôtes, participent aussi au turn-over des matières organiques (Smith & Read, 2008; Philips et al., 2014). Les champignons, saprotrophes ou ectomycorhiziens, sont largement impliqués dans ces processus de recyclage des ressources organiques et de mobilisation du carbone, de l'azote et du phosphore à partir des litières et du bois mort par le biais de leurs activités enzymatiques extracellulaires (Courty et al., 2010). Le processus de décomposition des matières organiques est d'abord assuré, dans les premières phases, par les champignons saprotrophes, aux activités en majorité de type hydrolytique, auxquels succèdent les champignons ectomycorhiziens, aux activités de type oxydatif (Lindahl & Tunlid, 2015). Ces cortèges contribuent à la dégradation des composés organiques complexes ligno-cellulosiques et les protéines, constituant un facteur clé de la fertilité biologique (figure I.6). L'incorporation au sol de la nécromasse fongique mycélienne représente un apport non négligeable de matière organique (Lindahl & Tunlid, 2015). Le niveau d'activité enzymatique des communautés fongiques offrent alors un indicateur efficace du fonctionnement du sol (Nannipieri et al., 2003).



Figure I.6 : rôle des cortèges fongiques dans les processus de décomposition de la matière organique (modifié d'après Lindahl & Tunilid, 2015)

Une étude récente (Talbot et al., 2013) a mis en évidence un partage des tâches entre les communautés ectomycorhiziennes et saprotrophes dans les processus de décomposition des matières organiques des sols forestiers. Ainsi, les champignons ectomycorhiziens seraient responsables des sécrétions d'enzymes dégradant les composés récalcitrants azotés : protéases et peroxydases. Les champignons saprotrophes quant à eux sont à l'origine des activités enzymatiques ciblant le phosphore organique (phosphatase acide) ainsi que les polymères complexes, celluloses, hémicelluloses et chitines. En revanche, les champignons mycorhiziens à arbuscules, associés en majorité aux plantes de la strate herbacée, ne sécrètent pas d'enzyme extracellulaire et donc ne présentent pas de potentiel saprotrophe (Burke et al., 2011).

Les activités enzymatiques de ces communautés fongiques sont aussi fortement soumises à un effet saisonnalité. Dans le cas des champignons ectomycorhiziens en particulier, les activités enzymatiques sont corrélées avec la phénologie des arbres selon un cycle saisonnier calé sur les périodes avant/après débourrement (Courty et al., 2006 ; Courty et al., 2007 ; Burke et al., 2011).

3. Synthèse : Impacts du prélèvement des rémanents sur l'écosystème

3.1 Importance du rôle écologique du bois mort au sol

3.1.1 Un réservoir de minéralomasse

Les branches et les feuilles constituent un stock essentiel de biomasse et de minéralomasse, plus ou moins importante et différemment répartie selon les essences et les contextes pédoclimatiques (Ranger et Bonneau, 1986 ; Jacosbon et al., 2000). Bien que le houppier ne représente qu'environ un tiers de la biomasse aérienne d'un arbre à maturité, il concentre entre 60 et 70% des concentrations en azote, phosphore, magnésium, calcium et potassium chez les feuillus (Achat et al., 2015). Chez les résineux, pour lesquels la grume peut représenter jusqu'à 80% de la biomasse aérienne, les compartiments écorce + branches + feuillage concentrent près de 80% de la minéralomasse, surtout dans les jeunes années des peuplements (Ponette et al., 2001).

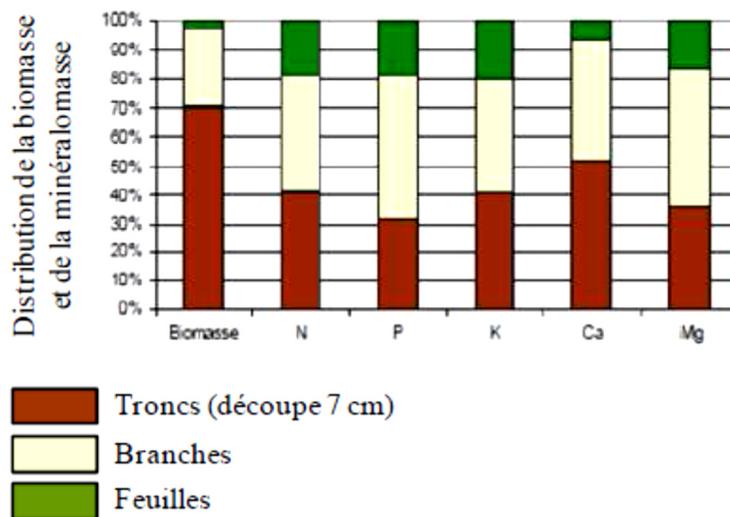


Figure I.7: Répartition de la biomasse et de la minéralomasse aériennes dans différents compartiments pour des peuplements de chênes et charmes (Landmann et al., 2013, Rapport Resobio)

A partir d'une synthèse réalisée à l'échelle globale, on estime que la récolte des branches en plus de la grume conduit à une augmentation théorique des exportations de 60 à 90% pour les éléments minéraux majeurs : calcium, azote, phosphore, magnésium, potassium et soufre (Achat et al., 2015).

Ces exportations sont d'autant plus importantes si on étend la récolte à d'autres compartiments comme les branches fines (diamètre inférieur à 7 cm) ou le feuillage,

particulièrement riche en azote, potassium et calcium (Ranger et Bonneau, 1986). Les exportations augmenteraient alors entre 122 et 183% pour ces mêmes éléments minéraux majeurs (Achat et al., 2015). Ces tendances sont accentuées dans le cas des jeunes tiges (diamètre inférieur à 15 cm) pour lesquelles la proportion houppier/volume total est plus importante. Dans ce cas présent, la récolte par arbre entier entraîne une augmentation accrue des exportations de minéralomasse, surtout si l'exploitation n'est pas effectuée hors feuillage, dans le cas des peuplements résineux par exemple. Les impacts sur la production des peuplements sont d'autant plus ressentis lors de la première éclaircie, stade auquel les peuplements sont les plus vulnérables et prélèvent le plus de nutriments dans le sol (Laclau et al., 2005).

3.1.2 Un réservoir de biodiversité

Le bois mort, sur pied ou au sol, est un habitat essentiel pour de nombreux organismes. Il assure un rôle de réservoir d'azote et de phosphore, de stockage du carbone organique. De même que la litière forestière, les rémanents au sol participent au maintien des conditions microclimatiques localement : ombrage au sol, température, rétention de l'humidité, protection mécanique. Le bois mort au sol constitue un habitat privilégié pour les organismes saproxyliques : insectes xylophages (coléoptères en particulier), arthropodes, cortèges fongiques et bactériens. Plusieurs études ont à présent montré une corrélation positive entre le volume de bois mort laissé en forêt et la diversité spécifique, chez les insectes saproxyliques (Simila et al., 2003) ainsi que chez les champignons (Norden et al., 2004).

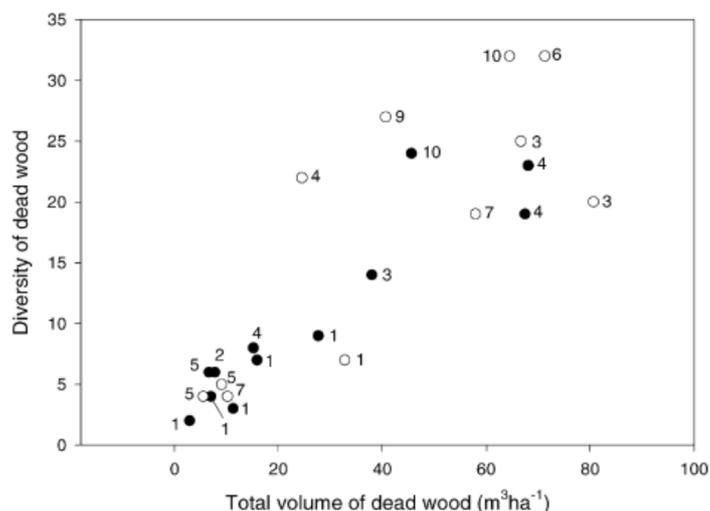


Figure 1.8 : Corrélation entre le volume de bois mort et la diversité spécifique chez les Coléoptères saproxyliques (Simila et al., 2003)

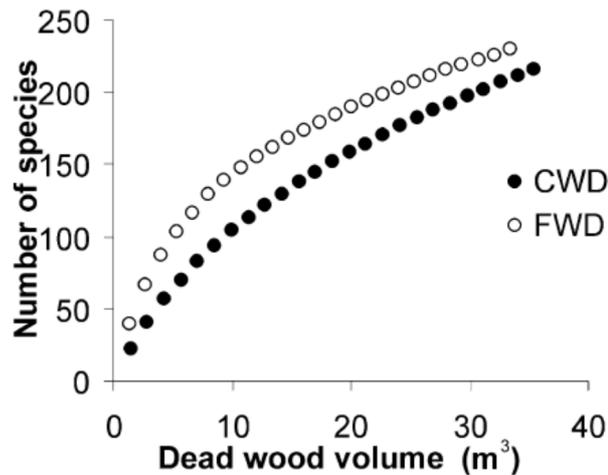


Figure 1.9 : Corrélation entre le volume de bois mort (m^3) et la diversité spécifique chez les Champignons Basidiomycètes dans les débris fins ligneux (FWD) et les débris grossiers (CWD) (Norden et al., 2004)

La richesse spécifique augmente aussi en fonction du stade de dégradation du bois (Simila et al., 2003 ; Walker et al., 2012). Tout au long des différents stades de décomposition, le bois mort constitue un réservoir enrichi de diversité fongique abritant des espèces saprophytes (pourritures blanches et brunes), symbiotiques ou parasites. Les assemblages ectomycorhiziens, en particulier, y sont plus d'autant plus abondants que le bois mort est au sol depuis longtemps (Walker et al., 2012). Indispensables à la nutrition des arbres forestiers, ils représentent un tiers de la biomasse microbienne en forêt boréale (Rajala et al., 2012) d'où l'importance de connaître leur dépendance vis-à-vis du bois mort. Dans des pessières boréales en Fennoscandie, les champignons décomposeurs du bois sont présents dès les premiers stades de décomposition (pourriture blanche et molle) alors que les champignons ectomycorhiziens préfèrent coloniser le bois en état de forte décomposition, au sol depuis plus de 60 ans (Rajala et al., 2012 ; Walker et al., 2012) ou bien les menus-bois de moins de 7 cm de diamètre (Walker et al., 2012).

Ces menus-bois jouent donc un rôle particulièrement important de conservation de la diversité et probablement de ses fonctions. Une étude réalisée en forêt feuillue tempérée en Suède montre l'importance des menus-bois (diamètre inférieur à 10 cm) en terme de densité et de diversité des espèces fongiques : 75% des Ascomycètes et 30% des Basidiomycètes sont strictement inféodés aux menus-bois et ne sont pas retrouvés sur les billons de diamètre supérieur (Norden et al., 2004). Les menus-bois et débris fins ligneux constituent un habitat essentiel pour une proportion importante d'espèces de coléoptères lignicoles et de lichens, même s'ils représentent souvent un substrat secondaire (Dahlberg et al., 2011).

L'abondance de nécromasse fongique dans le bois (cordons mycéliens et rhizomorphes de champignons décomposeurs) et les fortes activités chitinases fongiques dans le bois mort laissent suggérer que les champignons ectomycorhiziens seraient susceptibles de mobiliser des nutriments à partir de la nécromasse des décomposeurs en faveur de la nutrition des arbres (Buée et al., 2007).

3.2 Impacts du prélèvement des rémanents sur la fertilité et la productivité des sols

3.2.1 Effets des prélèvements de biomasse forestière sur la richesse chimique des sols forestiers

L'utilisation des résidus d'exploitation est déjà pratiquée pour alimenter la filière bois-énergie, notamment à l'étranger. De nombreuses études sur les effets d'une intensification des récoltes forestières sont menées depuis plusieurs années dans le cadre de réseaux de suivi des écosystèmes sur le long terme :

- le **réseau CIFOR** (Center For International Forestry Research) en milieu tropical
- le **réseau Fennoscandien**, constitué d'un ensemble de sites en zone boréale et sub-boréale (Norvège, Suède, Finlande).
- le réseau Nord-Américain **LTSP** (long-term soil productivity).

Le suivi de ces réseaux met en évidence la nécessité d'étudier sur plusieurs dizaines d'années les impacts des exportations de biomasse sur la fertilité chimique et biologique des sols forestiers, en favorisant les approches pluridisciplinaires. Par ailleurs, les réponses des écosystèmes dépendent fortement du contexte biogéographique. La table I.1 récapitule les différents types de réponses des sols forestiers selon le contexte biogéographique et la durée de l'étude.

Contexte boréal

Dans les écosystèmes boréaux, il est souvent observé après récolte par arbre entier (WTH= whole tree harvesting) une diminution de la minéralisation du carbone et de l'azote dans les horizons organiques (Powers et al., 2005 ; Smolander et al., 2010) ainsi qu'une perte en nutriments et en éléments échangeables (Thiffault et al., 2011 ; Brangtberg et Olsson, 2012). Des études récentes menées en forêt boréale et en forêt nordique tempérée mettent en lumière

une influence du type de récolte sur le stock de carbone dans le sol : les stocks de carbone sont d'autant plus affectés que l'exportation de biomasse forestière est intense, les impacts les plus visibles étant ceux causés par une récolte d'arbres entiers associée à un dessouchage, principalement dans les horizons organiques (Clarke et al., 2015). Une simulation sur des forêts résineuses suédoises, prenant en compte plusieurs types de récolte (grume seule, WTH, WTH+ dessouchage) confirme cette tendance sur un pas de temps entre 20 et 100 ans, et met en évidence une chute des stocks de carbone du sol plus intense au cours des 20 premières années de simulation (Ortiz et al., 2012).

Dans les peuplements résineux des zones boréales, ce sont les cations basiques dont les pertes sont les plus importantes, notamment pour le magnésium et le calcium dont les stocks sont d'autant plus diminués par les prélèvements d'arbres entiers (Tamminen et al., 2012). La récolte par arbre entier provoque dans 70% des cas une perte en cations basiques au cours des dix premières années suivant la coupe (Thiffault et al., 2011). En revanche, les réponses des peuplements résineux en forêt scandinave dépendent fortement du contexte pédoclimatique et de la fertilité initiale des sols : certains sites ne présentent aucune différence entre récolte traditionnelle et WTH quant aux quantités de bases échangeables, au bout de cinq ans (Olsson, 1999). Ainsi, en 2010, Wall n'observe aucun effet significatif trente années après WTH sur le taux de matière organique, les stocks de nutriments du sol et les concentrations foliaires sur des épicéas en Finlande (Wall, 2012). Il est nécessaire de préciser que seuls les rémanents d'exploitation ont été prélevés et non les aiguilles, qui représentent le stock le plus important de nutriments, principalement d'azote et de potassium. Cette synthèse montre que lorsqu'ils sont significatifs, les effets du WTH se traduisent par une diminution des concentrations de Ca, Mg, P, K et du pH.

Contexte tempéré

Sur les sites du réseau LTSP, situés dans des contextes boréaux à tempérés, les retraits de litière et de rémanents ont provoqué des pertes importantes en phosphore disponible au bout de cinq ans, jusqu'à 30 cm de profondeur, ces pertes étant d'autant plus fortes dans les climats les plus secs. Ont aussi été notées des diminutions en azote disponible et des baisses des concentrations de carbone dix ans de manipulation (Powers et al., 2005). L'exploitation par récolte d'arbres entiers, impacte fortement les stocks en phosphore disponible : en forêt feuillue, une perte de phosphore cinq fois plus importante est observée dans les peuplements traités en WTH par rapport à ceux traités par coupe traditionnelle, qui laisse sur place les

résidus de coupe, et jusqu'à sept fois plus importante dans le cas de forêts résineuses boréales (Thiffault et al., 2011).

En contraignant le plus possible les écosystèmes, de nombreuses études se sont intéressées aux effets des prélèvements de litière. La synthèse de Sayers (2006) a recensé de façon complète les impacts de telles pratiques, très fréquentes dans les forêts européennes et tropicales jusqu'à la moitié du XX^{ème} siècle. Elle souligne le rôle essentiel de protection du sol contre l'érosion (impact des précipitations) et le tassement. Comme le bois mort au sol, la litière forestière fournit une source nutritive pour de nombreux organismes, notamment pour les vers de terre et les arthropodes et assure des fonctions de rétention de l'humidité (Ebermayer, 1876 in Sayers, 2006) et de tampons contre les variations de température (Sayers, 2006).

Contexte tropical

En forêt tropicale où les sols sont majoritairement sableux et peu fertiles, la récolte par arbre entier et le retrait de la litière sur des plantations d'*Eucalyptus globulus* provoquent la diminution de la minéralisation de l'azote, du carbone et des stocks de cations échangeables du sol, de potassium en particulier, avec une réponse significative de l'écosystème à très court terme (O'Connell et al. 2002 ; Mendham et al., 2003). Des impacts similaires ont été observés sur des peuplements au Congo, où les stocks de carbone, d'azote, de magnésium échangeable et les teneurs en sodium ont significativement diminué un an après l'exploitation des résidus (Deleporte et al., 2008 in Nambiar et al., 2008) Ces effets semblent très dépendants du contexte d'étude puisque des manipulations de litière et de rémanents sur des sols sableux au Congo n'ont induit aucune modification des quantités en carbone organique, azote et éléments échangeable (Mg, K, Ca) dans le sol sept ans après l'intervention (Laclau et al., 2010). Des traitements similaires de retrait des rémanents et de la litière ont été effectués sur des écosystèmes tempérés au nord de l'Espagne, sans effet significatif sur la minéralisation de l'azote à court terme un an après manipulation (Pérez-Batallon et al., 2001).

La majorité de ces résultats, néanmoins, correspondent à des expérimentations menées en milieu tropical ou boréal/sub-boréal, sur des sols sableux, acides, voire podzolisés, pauvres en éléments minéraux, et donc fortement dépendant de l'apport et du recyclage de la matière organique. Ils ne sont donc pas directement applicables aux sols et aux contextes environnementaux moins contraignants pour lesquels les références sont insuffisantes, en particulier en zone tempérée européenne.

	éléments observés	effets	pas de temps	zone biogéographique	références
WTH	minéralisation C et N (horizon OH)	diminution	10-30 ans	LTSP et boréale	Smolander et al. 2010; Powers et al. 2005
	stocks C, N, P, stocks Ca, Mg, K (horizons OH+ minéral)	diminution	15-25 ans	boréale	Thiffault et al., 2011 ; Brangtberg et Olsson, 2012; Tamminen et al. 2012
	bases échangeables	ns	5 ans	boréale	Olsson, 1999
Retrait des branches	bases échangeables stocks C, N, P, MOS	ns	30 ans	boréale	Wall, 2012
Retrait des branches + litière	stocks P	diminution	5 ans	LTSP	Powers et al., 2005
	stocks C et N		10 ans		
	minéralisation C et N stocks Ca, Mg, K	diminution	1-5 ans	tropicale	O'Connell et al. 2002 ; Mendham et al., 2003
	Stocks C, N, K, Mg, Ca	ns	7 ans	tropical	Laclau et al., 2010
	Stocks C, N, Mg, Na	diminution	1 an	tropical	Deleporte et al., 2008 in Nambiar et al., 2008
minéralisation N	ns	1 an	tempérée	Pérez-Batallon et al., 2001	

Table I. 1 : Effets de différentes intensités de prélèvement sur la fertilité chimique des sols forestiers (ns = non significatif)

3.2.2 Effets des prélèvements de biomasse forestière sur la productivité des peuplements

Les réponses des peuplements quant à leur productivité sont fortement liées au contexte biogéographique et sont observables le plus souvent sur un pas de temps plus long.

En zone boréale, les effets négatifs du WTH sur des peuplements de pins et épicéas se sont fait ressentir 5 ans après traitement, se traduisant par une diminution de 5 à 6 % de la croissance en volume (Jacobson et al., 2000). Au bout de 24 ans de pratique de WTH, des diminutions de hauteur et de diamètre de 83 à 94% ont été enregistrées sur des pins, dues aux pertes en ressources azotées (Thiffault et al., 2011). Une récente étude sur des peuplements de pins sylvestres en Suède montre que les réductions de croissance en volume les plus importantes ont lieu au cours des dix premières années après intervention alors qu'aucun effet significatif sur la croissance des arbres n'est enregistré plus tard (Egnell et Ulvcróna, 2015). Pourtant, dans la plupart des cas, le temps de réponse est long : les diminutions de surface terrière et de volume sont observées à partir de la seconde période de 10 ans après WTH sur des peuplements de pins et d'épicéas (Hemilssari et al., 2011), ainsi que les réductions de hauteur dominante sur des pessières (Wall & Hytonen, 2011).

En contexte tempéré en Allemagne, les effets d'un raclage répété de la litière sur le long terme ont été observés sur des peuplements de pins sylvestres âgés de 70 ans et de chênes âgés de 400 ans. Le retrait des litières datait de dix à quinze ans pour les peuplements de pins mais la chênaie avait subi des raclages de litière répétés tous les sept à dix ans sur les périodes 1901-1946 et 1950-1996. Aucune diminution significative de croissance n'a été avérée sur les peuplements de pins alors qu'une baisse de croissance de 20% a été remarquée sur les chênes, bien que peu interprétable en raison de l'hétérogénéité des réponses d'un arbre à l'autre (Zang & Rothe, 2013). Ce type de pratique *a priori* très contraignante ne semble pas avoir d'impact sur des essences habituées aux stations pauvres, notamment lorsque les dépôts atmosphériques compensent les exportations de nutriments dues au raclage de la litière et que les peuplements ont dépassé l'accroissement maximum en volume. Sur vingt à trente ans de raclage de litière, des diminutions de 15 à 20% de la croissance en diamètre ont pu être notées (Sayers, 2006). Les effets en sont encore plus visibles sur les jeunes peuplements en régénération : une diminution de 60% du diamètre et de 66% de la hauteur moyenne a été enregistrée quatre ans après le retrait de la litière sur un peuplement mélangé de *Populus tremuloides* et *Picea glauca* du réseau LTSP en Colombie-Britannique (Tan et al., 2005).

Des pratiques similaires réalisées dans des écosystèmes tropicaux entraînent des pertes de production observables bien plus rapidement dans la vie du peuplement. Sur des plantations d'Eucalyptus au Congo, des diminutions significatives de volume sont observées entre deux ans (Nzila et al., 2002) et sept ans après traitement (Laclau et al., 2010). En compilant les résultats observés sur dix sites d'Eucalyptus du réseau CIFOR situés en Chine, Australie, Inde, Afrique du Sud, Brésil et Congo, il se dégage une très forte corrélation la réponse du peuplement en terme et productivité (surface terrière et hauteur dominante) et la quantité d'azote exportée par la récolte des litières et des rémanents (Nambiar et al., 2008 ; Saint-André et al., 2008). Cela permet de définir un *indice de charge* de l'azote comme la quantité de N exportée par l'exploitation des litières et des rémanents rapportée à la concentration en azote dans la profondeur 0-10 cm. Pour les dix sites CIFOR, cet indice expliquait 75 % de la variabilité de réponse des peuplements au retrait de la matière organique (Saint-André et al., 2008).

En général, les sites traités en WTH ou soumis à des exportations massifs de litière présentent une croissance et une production de biomasse inférieures à ceux où seule la grume est récoltée. Les effets apparaissent dès les premières années après traitement et se font encore fortement ressentir à partir de dix ans après coupe (Achat et al. 2015).

3.3 Impacts du prélèvement des rémanents sur la diversité spécifique et fonctionnelle

3.3.1 Rôle des communautés microbiennes et réponses aux perturbations de leur environnement et redondance fonctionnelle

Les cortèges bactériens et fongiques assurent un rôle essentiel dans les étapes de dégradation et de minéralisation des matières organiques des sols. Le fonctionnement de l'écosystème est positivement corrélé avec la richesse spécifique des sols (Nielsen et al., 2011). Il est donc envisageable que des perturbations significatives de ces communautés microbiennes impacteraient le fonctionnement biologique des écosystèmes forestiers. De manière générale, les communautés microbiennes sont supposées faire preuve d'un bon potentiel de résilience après perturbation, notamment grâce à leur taux de croissance rapide et à leur flexibilité physiologique (Allison & Martiny, 2008). Leur très large diversité spécifique suggère aussi une redondance fonctionnelle qui sauvegarderait l'écosystème d'une altération post-perturbation (cf. § 2.3.1).

Dans leur synthèse de 2008, Allison et Martiny reportent quatre éventuelles réactions des communautés microbiennes à une perturbation :

- **résistance** : les assemblages demeurent inchangés.
- **résilience** : les assemblages sont modifiés mais parviennent à recouvrer leur état originel.
- **redondance fonctionnelle** : les assemblages sont modifiés en présentant des fonctionnalités similaires qui permettent à l'écosystème de fonctionner à l'identique.
- **ruptures** des assemblages et du fonctionnement de l'écosystème, pouvant aller jusqu'à son dysfonctionnement.

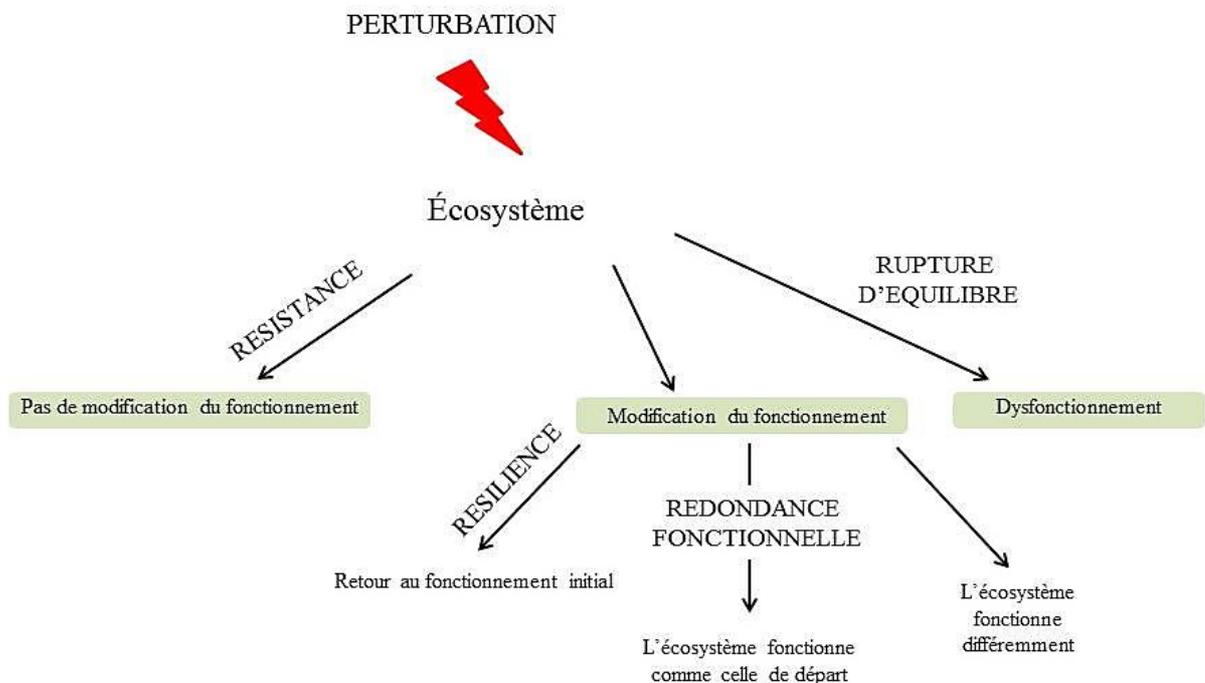


Figure I.10 : Réponses des communautés microbiennes à une perturbation et impacts sur le fonctionnement de l'écosystème (d'après Allison & Martiny, 2008)

La flexibilité et la redondance fonctionnelle de ces communautés, en particulier dans les métabolismes de dégradation des matières organiques (Rousk et al., 2009) permettent de supposer que ces perturbations n'impacteraient pas les fonctionnalités biologiques des sols.

3.3.2 Effets des prélèvements de biomasse forestière sur la biodiversité bactérienne et fongique

Du fait de la niche écologique essentielle que constituent les rémanents d'exploitation, et leur rôle indispensable au sein des réseaux trophiques du sol forestier, leur exportation hors forêt peut impacter négativement la biodiversité forestière et le fonctionnement biologique de ces sols. L'impact de l'exploitation des rémanents sur la biomasse microbienne a été peu étudié hors des forêts boréales et sub-boréales de résineux et les réponses sont variables selon les taxons et les contextes biogéographiques. Une synthèse de ces résultats par groupe taxonomique étudié est proposée par la table I. 2.

Des pratiques telles que la récolte par arbre entier et les exportations de litière causent une diminution rapide et intense de la biomasse microbienne (bactérienne et fongique confondues) dès les deux années consécutives au traitement en zone tropicale (Mendham et al., 2002). Les réponses des écosystèmes sont plus contrastées en zone tempérée et sub-boréale. Sur des plantations de *Pinus radiata* en Espagne, la récolte des litières et des rémanents n'a provoqué aucun effet significatif sur la biomasse microbienne ni sur les taux de minéralisation de l'azote une année après perturbation (Pérez-Battallon et al., 2001).

Les communautés fongiques par exemple, sont connues pour répondre très significativement aux perturbations de leur environnement. Les réponses se traduisent par des modifications de la composition spécifique des cortèges, plus rarement par des pertes de richesse spécifique. Lors d'interventions qui modifient fortement leur habitat telles que des coupes à blancs ou une éclaircie intense, on observe des changements clairs de la composition spécifique des communautés ectomycorhiziennes, parfois seulement un an ou deux après intervention (Jones et al., 2003 ; Buée et al., 2005). Ces communautés fongiques ne semblent pas recouvrer leur état initial avant plusieurs années, ce que montrent des suivis sur le long terme sur lesquels les assemblages fongiques du sol, principalement ectomycorhiziens et saprotrophes, demeurent toujours perturbés cinq ans après WTH et retrait de la litière (Hartmann et al., 2012), voire treize ans après traitement pour certains Ascomycètes saprotrophes (Hartmann et al., 2009). Ces études ont été menées sur les placettes LTSP sub-boréales de Colombie-Britannique et les effets observés sont plus intenses dans les horizons organiques que dans les horizons minéraux. La sensibilité des espèces ectomycorhiziennes à ces exportations de biomasse peut être directement liée à leur colonisation préférentielle des menus-bois et du bois mort au sol évoquée précédemment, ainsi qu'aux effets éventuels sur la flore accompagnatrice. Les

bactéries sont globalement moins sensibles que les champignons, en particulier aux retraits de litière et de rémanents (Hartmann et al., 2012) mais apparaissent plus impactées par les modalités de tassement du sol, particulièrement le genre *Pseudomonas* (Axelrood et al., 2002 ; Hartmann et al., 2012). Ceci s'explique en partie par la flexibilité physiologique de la plupart des genres bactériens et leurs traits écologiques ubiquistes et non symbiotiques (Hartmann et al., 2012).

En 1999, Mahmood et al. ont mis en évidence des résultats similaires, révélant une baisse significative du taux de mycorhization et de la densité des ectomycorhizes après des récoltes de rémanents régulières sur 30 ans dans un peuplement d'épicéas. La composition spécifique des communautés demeurait inchangée (Mahmood et al., 1999). Sur des sites finlandais de Pins sylvestres, Dighton et al. (2012) ont aussi observé une diminution significative de l'abondance des apex ectomycorhiziens sur les placettes ayant subi une récolte des résidus de coupe cinq ans auparavant. Une récente étude finlandaise sur les impacts du type de récolte sur les communautés ectomycorhiziennes met une fois de plus en relief la nécessité de prendre en compte le temps de réponse : à court terme, aucune différence de richesse ou de diversité spécifique n'a été remarquée entre les placettes récoltées traditionnellement, celles où les rémanents ont été exploités et celles ayant subi un dessouchage (Huusko et al., 2015). Les traitements avaient été effectués avant plantation et les apex racinaires échantillonnés quatre ans après. En revanche, richesse et diversité sont significativement plus élevées dans les peuplements non récoltés. Il serait intéressant de poursuivre l'étude sur plus long terme afin de conclure à une absence d'impact de ces pratiques que les communautés ectomycorhiziennes, qui présenteraient une réponse différée dans le temps mais rémanente sur le long terme.

Sur des sapinières-pessières montagnardes en Colombie-Britannique, on ne note pas de perturbation de la diversité ni de la richesse taxonomique quinze ans après la récolte des rémanents suite à une coupe à blanc mais des modifications significatives au sein des communautés ectomycorhiziennes et des changements de cortèges symbiotiques (Walker et al., 2012). En zone boréale et sub-boréale, une étude menée sur 25 ans a montré que la récolte des rémanents d'exploitation ne provoquait aucune modification des communautés saprophytes du bois et de la litière ni appauvrissement de la richesse spécifique sur le long terme (Allmer et al., 2009). Ces pratiques n'ont pas affecté la présence et l'abondance des communautés lignicoles, ce qui suppose un continuum de colonisation entre bois mort au sol et litière, une porosité entre ces deux habitats et une souplesse de ces cortèges quant à leur substrat. Cette étude ne s'attarde pas sur les espèces ectomycorhiziennes, largement présentes

dans le bois mort au sol dans les derniers stades de décomposition. Des travaux antérieurs avaient testé le raclage de la litière répété sur deux années consécutives sur une hêtraie suédoise mature : les inventaires des sporocarpes mettaient en évidence une baisse significative de la production de fructifications des espèces saprotrophes sur les placettes sans litière (Tyler, 1991). La production de sporocarpes semblait en revanche stimulée pour les espèces ectomycorhiziennes mais le nombre limité d'échantillons ne permet que de détecter une tendance.

Le temps de latence des réponses aux modifications de l'environnement, plus ou moins long selon les taxons, confirme la nécessité de suivre ces expérimentations *in situ* sur plusieurs rotations avec un pas de temps adapté.

3.3.3 Cas des autres groupes taxonomiques

Les effets de l'exportation des résidus ligneux sur la faune du sol impliquée dans les chaînes de recyclage de la matière organique, ont été très peu étudiés au regard d'autres groupes comme les invertébrés saproxyliques (Bouget et al., 2012), surtout en forêt tempérée. Ce constat est d'autant plus paradoxal qu'à l'échelle d'une parcelle forestière la localisation des rémanents d'exploitation est un des principaux facteurs influençant la distribution spatiale de la faune du sol et de ses ressources (Aubert et al., 1020). Les études restent très fragmentaires et très fortement concentrées sur des forêts de résineux Nord-Européennes et Nord-Américaines. Ainsi Work et al. (2013) et Dighton et al. (2012) ont récemment montré une chute des abondances pour les communautés de macro-arthropodes et d'enchytréides en réponse à la réduction des résidus ligneux sous peuplement résineux. Les travaux les plus complets portés sur l'effet de l'exploitation des rémanents correspondent à une approche multi-taxonomique menée sur des pinèdes suédoises (Bengtsson et al., 1997; Bengtsson et al., 1998). Il en résulte que l'exportation des résidus d'exploitation conduit à une modification quantitative plutôt que qualitative des assemblages d'espèces, qui se traduit par une chute de l'abondance des macroarthropodes (Collemboles, insectes, araignées, diptères, acariens) quinze ans après récolte alors que les communautés d'enchytréides n'étaient pas affectées. Dighton et al. (2012) sur des sites finlandais n'observent pas d'impact du prélèvement des rémanents sur les communautés de nématodes cinq années après récolte ni de corrélation entre la quantité de biomasse ligneuse laissée au sol et abondance de la faune du sol. En revanche, la richesse en enchytréides et arthropodes est significativement réduite sur les sites où les rémanents ont été prélevés après exploitation.

Sur les sites LTSP sub-boréaux, le retrait de la litière et des rémanents a conduit à une forte diminution de la densité totale de la mésofaune et de la richesse spécifique, résultats d'autant plus marqués pour les Acariens oribates (Batigelli et al., 2003). Les modifications des conditions microclimatique, des conditions d'ombrage et du taux d'évaporation causées par le retrait du bois au sol et de la litière sont très certainement responsables des perturbations des communautés d'oribates, ainsi que les pertes de biomasse microbienne, source nutritive majeure des Acariens. A ce jour, une des rares études menées en forêt caducifoliée tempérée et concernant les vers de terre a mis en évidence une chute de l'abondance de deux espèces du genre *Diplocardia* en réponse à l'augmentation de l'exportation de la matière organique (Jordan et al., 2000). Ces deux espèces étant des espèces épigées, leur réponse ne présage pas de celle d'autres groupes de vers de terre (anéciques et endogés).

Dans la mesure où la pédofaune est prioritairement contrainte par le contexte pédoclimatique et la végétation en place (Lavelle & Spain, 2001), il apparait difficile aujourd'hui d'élaborer des lignes directrices opérationnelles pertinentes pour renseigner le gestionnaire et les résultats des travaux menés sur les forêts de résineux nordiques ou d'eucalyptus en zone tropicale ne sont pas généralisables immédiatement au contexte français.

	taxons observés	effets	pas de temps	zone biogéographique	références
retrait de litière	champignons	diminution des fructifications saprotrophes augmentation des fructifications EcM	2 ans	sub-boréale	Tyler, 1991
Retrait des branches + litière	biomasse microbienne (bactéries + champignons)	diminution	1-2 ans	tropicale	Mendham et al., 2003
	biomasse microbienne (bactéries + champignons)	ns	1 an	tempérée	Pérez-Batallon et al., 2001
	biomasse microbienne (bactéries + champignons)	modification des assemblages	5 ans 13 ans	LTSP	Hartmann et al. 2012 Hartmann et al. 2009
	mésafaune (Acariens)	diminution de la densité diminution de la richesse spécifique	10 ans	LTSP	Batigelli et al. 2003; Jordan et al. 2000
Retrait des branches	champignons	diminution de la densité de mycorhizes	30 ans	boréale	Mahmood et al. 1999 Huusko et al. 2015
		+ diminution de la diversité et de la richesse	5 ans		
	nématodes	ns	5 ans	boréale	Dighton et al. 2012
	marcoarthropodes enchytréides	diminution de l'abondance modification des assemblages	5 à 15 ans	boréale	Bengtsson et al. 1997; Bengtsson et al. 1998; Dighton et al. 2012; Work et al. 2013

Table I. 2 : Effets de différentes intensités de prélèvement plusieurs taxons des sols forestiers (ns = non significatif)

3.3.4 Effets des prélèvements de biomasse forestière sur le fonctionnement biologique des sols

Les mesures d'activité enzymatique d'origine microbienne (bactérienne et fongique) sont un bon indicateur du fonctionnement biologique des sols, des processus de dégradation des composés organiques et du turn-over des MOS (Jackson et al., 1995 ; Nannipieri et al., 2003). La gestion forestière, par la perturbation du sol ou le passage en éclaircie des peuplements, impacte à différents niveaux les communautés microbiennes du sol, notamment en modifiant la composition spécifique des assemblages. Pourtant, il a été montré que certaines activités enzymatiques dans horizons de surface subissaient des modifications significatives une année après éclaircie, comme les activités protéases, arylsulfatases et phénol oxydases, directement reliées à la biomasse microbienne qui est négativement impactée par les travaux forestiers (Geng et al., 2012). Une éclaircie intense provoque une diminution des activités métaboliques des espèces ectomycorhiziennes, en particulier celles liées à la dégradation des composés organiques complexes et à la mobilisation de phosphore organique (Buée et al., 2005). La récolte des rémanents d'exploitation telle qu'effectuée par WTH accentue les impacts sur les activités enzymatiques des sols. Par exemple pour la forêt boréale résineuse, en comparant récolte de grume seule et récolte par arbre entier : si les activités phosphatase acide, β -glucosidase et β -glucosaminidase ne sont pas affectées, les activités protéases sont fortement réduites lorsque les rémanents sont exploités (Adamczyk et al., 2015). De plus, les activités protéases et phosphatase acide sont positivement corrélées à la quantité de rémanents laissés sur place.

En forêt tropicale, des tests similaires ont été effectués en modifiant les quantités de litière : retrait ou doublement des quantités de litière (Weintraub et al., 2013). Les activités enzymatiques dans le sol sont d'autant plus importantes que les quantités de litière sont abondantes. Le retrait de la litière provoque au bout d'un an une diminution des activités enzymatiques, largement significative dans le cas des enzymes associées à la minéralisation du carbone (β -glucosaminidase, β -glucosidase et cellobiohydrolase) causée par la suppression de leur substrat. A l'inverse, les sols sous une double quantité de litière présentent une augmentation des activités enzymatiques liées à l'acquisition d'azote.

Ces résultats ont été confirmés par approche métagénomique, en observant directement les niveaux d'expression des gènes codant les CAZy, les enzymes impliquées dans le métabolisme des composés glucidiques (Cardenas et al., 2015). Réalisées sur des sols

échantillonnés sur un site LTSP de Colombie-Britannique, ces analyses révèlent un effet à long-terme (13 ans après manipulation) sur l'expression directe du génome, qui se traduit par une diminution significative de l'abondance des gènes codant pour les enzymes responsables de la dégradation de la lignine, de la cellulose, des hémicelluloses et des pectines. Cette étude a démontré qu'il peut exister de profondes modifications des caractéristiques fonctionnelles des communautés microbiennes sur le long terme suite à une exportation de biomasse forestière.

3.4 Récapitulatif

La revue bibliographique menée par David Achat (Achat et al., 2015) fait un panorama à jour et très complet (230 références et 749 cas d'étude) des résultats acquis dans les trois réseaux internationaux (Scandinave, LTSP, CIFOR). Les effets observés d'un prélèvement accru de rémanents se manifeste, à des degrés divers selon les études et les scénarios étudiés, par une modification des propriétés physico-chimiques des matières organiques et de la litière des sols (qualité et quantité) et des horizons de surface. Certaines propriétés physiques telles que la densité apparente peuvent être affectées, notamment par l'atténuation du rôle protecteur de la litière et du bois au sol. Les modifications d'abondance et/ou de composition spécifique des communautés, plus ou moins remarquables selon les groupes taxonomiques, peuvent être accompagnées de perturbations de la diversité fonctionnelle, en particulier liée à la dégradation des matières organiques.

Le résultat des suivis de ces différents réseaux soulèvent deux points majeurs : l'importance du contexte biogéographique et la prise en compte du pas de temps de réponse de l'écosystème aux perturbations. L'existence d'effets sur la productivité des peuplements quelques années après les prélèvements de biomasse (< 10 ans) illustrent la nécessité de ne pas négliger les effets à court terme sur certains mécanismes de recyclage des matières organiques et de suivre l'écosystème dès les premières perturbations. De même, la persistance des modifications post-intervention, au niveau des communautés ou de la richesse chimique, sur des laps de temps supérieurs à 15-20 ans montre qu'un retour à un fonctionnement similaire à l'état initial s'étend sur le long terme. Les forêts tempérées et feuillues apparaissent largement moins représentées que les milieux tropicaux et boréaux/sub-boréaux dans l'ensemble de ces études d'impact. En effet, il apparaît difficile d'élaborer des lignes directrices opérationnelles pertinentes pour renseigner le gestionnaire en France et en Europe dans l'optique d'une transposition de ces pratiques sylvicoles aux forêts européennes, et les

résultats des travaux menés sur les forêts nordiques de résineux ou sur les plantations à croissance rapide en zone tropicale ne semblent pas directement généralisables au contexte français.

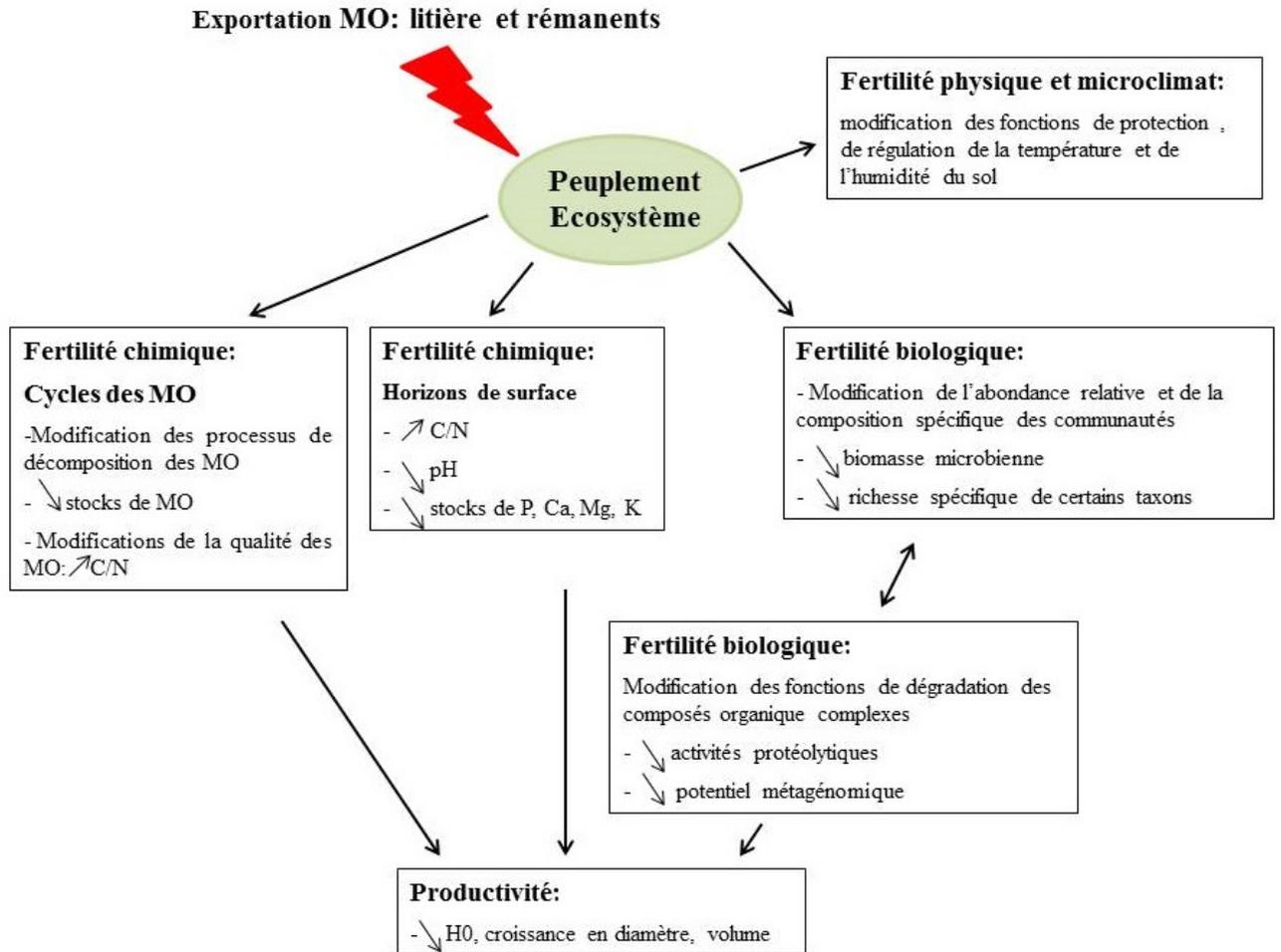


Figure I.11 : Récapitulatif des effets observés d'une exportation intense de matière organiques

Au-delà des modifications recommandées du paysage énergétique, les évolutions sylvicoles qui les accompagnent s'intègrent dans le contexte plus général de changements climatiques. Les modèles prédictifs du GIEC envisagent une augmentation plus ou moins forte des températures moyennes, ainsi que de la fréquence des aléas climatiques majeurs. Ces changements climatiques affectent directement les écosystèmes forestiers par des modifications des aires de répartition des espèces végétales (Thuiller et al., 2008 ; Cheiab et al., 2012) ou en augmentant leur vulnérabilité aux événements environnementaux tels que des incendies, tempêtes, sécheresse extrêmes, introduction d'espèces exotiques ou de pathogènes (Dale et al., 2001 ; Seidl et al., 2011). Gestionnaires et scientifiques sont alors appelés à

évaluer et anticiper les effets cumulés d'une multiplication des perturbations environnementales, notamment d'attaques parasitaires ou d'épisodes répétés de sécheresse, sur des peuplements forestiers éventuellement affaiblis par une intensification des pratiques sylvicoles.

4. Problématiques

Ces questionnements mettent en lumière le besoin d'un dispositif adapté au contexte tempéré des forêts françaises et européennes, qui évaluerait les effets de différents niveaux de prélèvement de biomasse forestière sur une échelle temporelle qui intègre les réponses à court, moyen et long terme. C'est dans ce contexte que s'est amorcée l'élaboration du réseau MOS (Matières Organiques des Sols) pour suivre les effets des prélèvements de litière et des menus-bois sur la fertilité chimique, la productivité et la biodiversité des sols forestiers à l'échelle de la forêt française.

L'élaboration d'un réseau destiné à perdurer sur le long terme sur de vastes surfaces implique une caractérisation initiale fine de chaque site expérimentaux afin d'identifier avec certitude les effets des manipulations de matière organique. L'essentiel de ce travail s'articule autour de la méthodologie d'élaboration d'un tel dispositif et du type d'impacts observables à très court terme sur le sol et ses communautés fongiques. Trois problématiques majeures se dégagent alors :

➤ **Comment tenir compte de la variabilité spatiale des propriétés du sol à l'échelle d'un site expérimental en amont des manipulations *in situ* ?**

Ce premier chapitre aura pour but de présenter un outil rapide et efficace de caractérisation de la variabilité spatiale des sols par spectrométrie infra-rouge, permettant d'élaborer un dispositif expérimental qui s'affranchit des interactions l'hétérogénéité initiale du site et la disposition des traitements.

➤ **Quels facteurs édaphiques et climatiques structurent les communautés fongiques sur les sites feuillus du réseau MOS ?**

La caractérisation T0 des sites expérimentaux est nécessaire en tant que référentiel des communautés présentes avant intervention. Elle offre aussi un éclairage sur la structure de la diversité fongique à une échelle régionale. On peut envisager des réponses différenciées selon les traits écologiques des espèces rencontrées, notamment dans le cas des champignons ectomycorhiziens. Du fait de leur étroite association

symbiotique avec les espèces forestières, on peut supposer que leur répartition à l'échelle régionale se calque sur celles des espèces hôtes et diffèrent de celles des autres espèces fongiques du sol.

Ces deux premiers chapitres posent les fondements de la description initiale des sols du réseau. Le troisième se concentrera sur les effets des manipulations des litières et des rémanents à très court terme, entre six mois et un an après intervention selon les sites.

➤ **Y a-t-il des impacts à très court terme du prélèvement accru de biomasse forestière sur le fonctionnement biologique des sols et sur leurs communautés fongiques ?**

L'accent y est porté sur l'aspect fonctionnel à partir de divers indicateurs. La spectrométrie NIRS-MIRS apporte une vision d'ensemble des éventuelles différences observables selon les traitements. Plus précisément, le cycle de l'azote et certaines activités enzymatiques caractéristiques seront observés de plus près ainsi que les cortèges fongiques après traitement.

Du fait du court intervalle de temps post-traitement, on peut s'attendre à un faible impact sur le fonctionnement du sol. En revanche, les cortèges fongiques pourraient présenter des modifications significatives suite aux manipulations de biomasse, étant donné leur réactivité face à un changement de leur environnement (après une éclaircie forte par exemple).

Le quatrième chapitre s'intéressera plus en détail aux réseaux trophiques des sols forestiers. La compréhension des réseaux trophiques entre champignons décomposeurs de la matière organique, champignons mycorhiziens et mécanismes de nutrition des arbres reste à approfondir. La biomasse ligneuse est un habitat pour de nombreuses espèces fongiques, saprotrophes et ectomycorhiziennes, et une source nutritive avérée pour les saprophytes ainsi que pour certaines espèces mycorhiziennes capables de dégrader les composés organiques complexes.

Dans un contexte d'exportation de bois mort, il s'agit démontrer expérimentalement que le comportement nécrotrophe de certains champignons symbiotiques vis-à-vis de la matière organique d'origine fongique, essentiellement la nécromasse des champignons lignivores peut bénéficier à la nutrition des arbres hôtes associés. Un traçage isotopique des transferts de

carbone et d'azote depuis la nécromasse jusqu'aux tissus végétaux permettra de valider ou non l'hypothèse selon laquelle l'arbre pourrait acquérir des nutriments par le biais d'un tel réseau trophique: bois mort - champignons décomposeurs - champignons mycorhiziens - plante hôte. L'enjeu de cette expérimentation réalisée *in vitro* est de répondre à la question suivante :

- **La nécromasse fongique est-elle une source directe d'azote et de carbone pour les arbres forestiers ?**

Enfin, la dernière partie s'appliquera à proposer des indicateurs fonctionnels pertinents pour le suivi de ces dispositifs expérimentaux à moyen et à long terme. Elle discutera les éventuelles évolutions des écosystèmes en réponse aux exportations de matière organique, et tentera d'ouvrir des perspectives de monitoring des différentes composantes fonctionnelles des sols forestiers.

5. Références

- Achat, D.L., Deleuze, C., Landmann, G., Pousse, N., Ranger, J., Augusto, L., 2015. Quantifying consequences of removing harvesting residues on forest soils and tree growth – A meta-analysis. *Forest Ecology and Management* 348, 124–141.
- Adamczyk, B., Adamczyk, S., Kukkola, M., Tamminen, P., Smolander, A., 2015. Logging residue harvest may decrease enzymatic activity of boreal forest soils. *Soil Biology and Biochemistry* 82, 74–80.
- ADEME, 2009. Biomasse forestière, populicole et bocagère disponible pour l'énergie à l'horizon 2020. Rapport final.
- Allison, S.D., Martiny, J.B., 2008. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 11512–11519.
- Allmér, J., Stenlid, J., Dahlberg, A., 2009. Logging-residue extraction does not reduce the diversity of litter-layer saprotrophic fungi in three Swedish coniferous stands after 25 years. *Canadian Journal of Forest Research* 39, 1737–1748.
- Aubert, M., Margerie, P., Trap, J., Bureau, F., 2010. Aboveground–belowground relationships in temperate forests: Plant litter composes and microbiota orchestrates. *Forest Ecology and Management* 259, 563–572.
- Axelrood, P.E., Chow, M.L., Radomski, C.C., McDermott, J.M., Davies, J., 2002. Molecular characterization of bacterial diversity from British Columbia forest soils subjected to disturbance. *Canadian Journal of Microbiology* 48, 655–674.
- Badeau V., Dupouey JL., Cluzeau C., Drapier J., Le Bas C. 2004. Projet CARBOFOR : Séquestration de carbone dans les grands écosystèmes forestiers en France. Tâche D1 :Modélisation et cartographie de l'aire climatique potentielle des grandes essences forestières françaises. ECOFOR n° 2002.17 INRA n° 4154 B
- Baldrian, P., Větrovský, T., Cajthaml, T., Dobiášová, P., Petránková, M., Šnajdr, J., Eichlerová, I.,

2013. Estimation of fungal biomass in forest litter and soil. *Fungal Ecology* 6.
- Battigelli, J.P., Spence, J.R., Langor, D.W., Berch, S.M., 2004. Short-term impact of forest soil compaction and organic matter removal on soil mesofauna density and oribatid mite diversity. *Canadian Journal of Forest Research* 34, 1136–1149.
- Bengtsson, J., Persson, T., Lundkvist, H., 1997. Long-term effects of logging residue addition and removal on macroarthropods and enchytraeids. *J. Appl. Ecol.* 34, 1014–1022.
- Bengtsson-Palme, J., Ryberg, M., Hartmann, M., Branco, S., Wang, Z., Godhe, A., De Wit, P., Sánchez-García, M., Ebersberger, I., de Sousa, F., Amend, A.S., Jumpponen, A., Unterseher, M., Kristiansson, E., Abarenkov, K., Bertrand, Y.J.K., Sanli, K., Eriksson, K.M., Vik, U., Veldre, V., Nilsson, R.H., 2013. Improved software detection and extraction of ITS1 and ITS2 from ribosomal ITS sequences of fungi and other eukaryotes for analysis of environmental sequencing data. *Methods in Ecology and Evolution*.
- Björheden, R., 2006. Drivers behind the development of forest energy in Sweden. *Biomass and Bioenergy* 30, 289–295.
- Bouget, C., Lassauce, A., Jonsell, M., 2012. Effects of fuelwood harvesting on biodiversity - a review focused on the situation in Europe. *Can. J. For. Res.-Rev. Can. Rech. For.* 42, 1421–1432.
- Brandtberg, P.-O., Olsson, B.A., 2012. Changes in the effects of whole-tree harvesting on soil chemistry during. *For. Ecol. Manage.* 277, 150–162.
- Buée, M., Courty, P.E., Mignot, D., Garbaye, J., 2007. Soil niche effect on species diversity and catabolic activities in an ectomycorrhizal fungal community. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 1947–1955.
- Buée, M., Maurice, J.-P., Zeller, B., Andrianarisoa, S., Ranger, J., Courtecuisse, R., Marçais, B., Le Tacon, F., 2011. Influence of tree species on richness and diversity of epigeous fungal communities in a French temperate forest stand. *Fungal Ecology* 4, 22–31.
- Buée, M., Reich, M., Murat, C., Morin, E., Nilsson, R.H., Uroz, S., Martin, F., 2009. 454 Pyrosequencing analyses of forest soils reveal an unexpectedly high fungal diversity. *New Phytologist* 184, 449–456.
- Buée, M., Vairelles, D., Garbaye, J., 2005. Year-round monitoring of diversity and potential metabolic activity of the ectomycorrhizal community in a beech (*Fagus silvatica*) forest subjected to two thinning regimes. *Mycorrhiza* 15, 235–245.
- Burkle, L.A., Marlin, J.C., Knight, T.M., 2013. Plant-Pollinator Interactions over 120 Years: Loss of Species, Co-Occurrence, and Function. *Science* 339, 1611–1615.
- Cacot, E., Neisner, N., Charnet, F., Leon, P., Nicolleau, C., Ranger, J., 2006. La récolte raisonnée des rémanents en forêt, Guide pratique, 20p.
- Canadell, J.G., Raupach, M.R., 2008. Managing Forests for Climate Change Mitigation. *Science* 320, 1456–1457.
- Cardenas, E., Kranabetter, J.M., Hope, G., Maas, K.R., Hallam, S., Mohn, W.W., 2015. Forest harvesting reduces the soil metagenomic potential for biomass decomposition. *The ISME Journal*, 1–12.
- Chebib, A., Badeau, V., Boe, J., Chuine, I., Delire, C., Dufrêne, E., François, C., Gritti, E.S., Legay, M., Pagé, C., Thuiller, W., Viogy, N., Leadley, P., 2012. Climate change impacts on tree ranges:

- model intercomparison facilitates understanding and quantification of uncertainty: Understanding and quantification of uncertainties of climate change impacts on tree range. *Ecology Letters* 15, 533–544.
- Clarke, N., Gundersen, P., Jönsson-Belyazid, U., Kjønaas, O.J., Persson, T., Sigurdsson, B.D., Stupak, I., Vesterdal, L., 2015. Influence of different tree-harvesting intensities on forest soil carbon stocks in boreal and northern temperate forest ecosystems. *Forest Ecology and Management* 351, 9–19.
- Cluzeau, C., Renecofor, 1998. Interprétation des mesures dendrométriques de 1991 à 1995 des 102 peuplements du réseau. O.N.F., département des recherches techniques, Fontainebleau.
- Costanza, C., d'Arge, R., de Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., O'Neill, R., Paruelo, J., Raskin, R., Sutton, P., Van den Belt, M., 2006. Environment: key issues for the twenty-first century. *Valuing the environment* 3, 22.
- Courty, P.-E., Buée, M., Diedhiou, A.G., Frey-Klett, P., Le Tacon, F., Rineau, F., Turpault, M.-P., Uroz, S., Garbaye, J., 2010. The role of ectomycorrhizal communities in forest ecosystem processes: New perspectives and emerging concepts. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 679–698.
- Dahlberg, A., 2001. Community ecology of ectomycorrhizal fungi: an advancing interdisciplinary field. *New Phytologist* 150, 555–562.
- Dahlberg, A., Thor, G., Allmér, J., Jonsell, M., Jonsson, M., Ranius, T., 2011. Modelled impact of Norway spruce logging residue extraction on biodiversity in Sweden. *Canadian Journal of Forest Research* 41, 1220–1232.
- Dale, V.H., Joyce, L.A., McNulty, S., Neilson, R.P., Ayres, M.P., Flannigan, M.D., Hanson, P.J., Irland, L.C., Lugo, A.E., Peterson, C.J., others, 2001. Climate change and forest disturbances: climate change can affect forests by altering the frequency, intensity, duration, and timing of fire, drought, introduced species, insect and pathogen outbreaks, hurricanes, windstorms, ice storms, or landslides. *BioScience* 51, 723–734.
- De Dieu Nzila, J., Bouillet, J.-P., Laclau, J.-P., Ranger, J., 2002. The effects of slash management on nutrient cycling and tree growth in Eucalyptus plantations in the Congo. *Forest Ecology and Management* 171, 209–221.
- Dighton, J., Helmisaari, H.-S., Maghirang, M., Smith, S., Malcolm, K., Johnson, W., Quast, L., Lallier, B., Gray, D., Setälä, H., Starr, M., Luro, J., Kukkola, M., 2012. Impacts of forest post thinning residues on soil chemistry, fauna and roots: Implications of residue removal in Finland. *Applied Soil Ecology* 60, 16–22.
- Direction générale des politiques agricole, agroalimentaire et des territoires. 2011, Le marché du bois en France : situation actuelle et perspectives à court terme, rapport du comité du bois pour Commission économique pour l'Europe des Nations Unies,
- Dominati, E., Patterson, M., Mackay, A., 2010. A framework for classifying and quantifying the natural capital and ecosystem services of soils. *Ecological Economics* 69, 1858–1868.
- Douhan, G.W., Vincenot, L., Gryta, H., Selosse, M.-A., 2011. Population genetics of ectomycorrhizal fungi: from current knowledge to emerging directions. *Fungal Biology* 115, 569–597.
- Dupouey, J.L, Pignard G., Badeau, V., Dhôte, J.F, Thimonier, A., Nepveu, G., Bergès, L., Augusto, L., Belkacem, S., Nys, c.. 2000, Stocks et flux de carbone dans les forêts françaises. *Revue forestière française*
- Egnell, G., Ulvcróna, K.A., 2015. Stand productivity following whole-tree harvesting in early thinning of Scots pine stands in Sweden. *Forest Ecology and Management* 340, 40–45.

Ericsson, K., Huttunen, S., Nilsson, L.J., Svenningsson, P., 2004. Bioenergy policy and market development in Finland and Sweden. *Energy Policy* 32, 1707–1721.

European Commission, Directorate-General for Research and Innovation, 2014. Where next for the European bioeconomy? the latest thinking from the European Bioeconomy Panel and the Standing Committee on Agricultural Research Strategic Working Group (SCAR). Publications Office, Luxembourg.

European Bioeconomy Panel 2nd Plenary meeting, Wednesday 12 and Thursday 13 February 2014, http://ec.europa.eu/research/bioeconomy/pdf/bioeconomycommunicationstrategy_b5_brochure_web.pdf

Eurostat : <http://ec.europa.eu/eurostat/web/energy/>

FAO, 2015. The Global Forest Resources Assessment 2015: How are the world's forests changing? www.fao.org/publications

Field, C.B., Intergovernmental Panel on Climate Change (Eds.), 2012. Managing the risks of extreme events and disasters to advance climate change adaptation: special report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, New York, NY.

Fontes-Rousseau, C., Jean, R., 2015. L'utilisation du territoire en 2014: Teruti-Lucas.

Fritts, S.R., Moorman, C.E., Hazel, D.W., Jackson, B.D., 2014. Biomass Harvesting Guidelines affect downed woody debris retention. *Biomass and Bioenergy* 70, 382–391. doi:10.1016/j.biombioe.2014.08.010

García-Martos, C., Rodríguez, J., Sánchez, M.J., 2013. Modelling and forecasting fossil fuels, CO₂ and electricity prices and their volatilities. *Applied Energy* 101, 363–375.

Geng, Y., Dighton, J., Gray, D., 2012. The effects of thinning and soil disturbance on enzyme activities under pitch pine soil in New Jersey Pinelands. *Applied Soil Ecology* 62, 1–7.

Hartmann, M., Howes, C.G., VanInsberghe, D., Yu, H., Bachar, D., Christen, R., Nilsson, R.H., Hallam, S.J., Mohn, W.W., 2012. Significant and persistent impact of timber harvesting on soil microbial communities in Northern coniferous forests. *The ISME Journal* 6, 2199–2218.

Hartmann, M., Lee, S., Hallam, S.J., Mohn, W.W., 2009. Bacterial, archaeal and eukaryal community structures throughout soil horizons of harvested and naturally disturbed forest stands. *Environ. Microbiol.* 11, 3045–3062.

Helmisaari, H.-S., Hanssen, K.H., Jacobson, S., Kukkola, M., Luro, J., Saarsalmi, A., Tamminen, P., Tveite, B., 2011. Logging residue removal after thinning in Nordic boreal forests: Long-term impact on tree growth. *Forest Ecology and Management* 261, 1919–1927.

Hibbett, D.S., 2007. After the gold rush, or before the flood? Evolutionary morphology of mushroom-forming fungi (Agaricomycetes) in the early 21st century. *Mycological Research* 111, 1001–1018.

Huusko, K., Tarvainen, O., Saravesi, K., Pennanen, T., Fritze, H., Kubin, E., Markkola, A., 2014. Short-term impacts of energy wood harvesting on ectomycorrhizal fungal communities of Norway spruce saplings. *The ISME journal*.

Jackson, CR, Foreman, C.M., Sinsabaugh, RL. 1995. Microbial enzyme-activities as indicators of organic-matter processing rates in a Lake Erie coastal wetland. *FRESHWATER BIOLOGY* Volume: 34, Issue: 2, Pages: 329-342

- Jacobson, S., Kukkola, M., Mälkönen, E., Tveite, B., 2000. Impact of whole-tree harvesting and compensatory fertilization on growth of coniferous thinning stands. *Forest Ecology and Management* 129, 41–51.
- Jones, M.D., Durall, D.M., Cairney, J.W.G., 2003. Ectomycorrhizal fungal communities in young forest stands regenerating after clearcut logging. *New Phytol.* 157, 399–422.
- Jordan, D., Hubbard, V.C., Ponder Jr, F., Berry, E.C., 2000. The influence of soil compaction and the removal of organic matter on two native earthworms and soil properties in an oak-hickory forest. *Biology and Fertility of soils* 31, 323–328.
- Laclau, J.-P., Levillain, J., Deleporte, P., Nzila, J. de D., Bouillet, J.-P., Saint André, L., Versini, A., Mareschal, L., Nouvellon, Y., Thongo M’Bou, A., Ranger, J., 2010. Organic residue mass at planting is an excellent predictor of tree growth in Eucalyptus plantations established on a sandy tropical soil. *Forest Ecology and Management* 260, 2148–2159.
- Laclau, JP; Ranger, J; Deleporte, P; Nouvellon, Y; Saint-Andre, L; Marlet, S; Bouillet, JP. 2005. Nutrient cycling in a clonal stand of Eucalyptus and an adjacent savanna ecosystem in Congo 3. Input-output budgets and consequences for the sustainability of the plantations. *FOREST ECOLOGY AND MANAGEMENT* 210(1-3) 375:391
- Lal, R., 2005. Forest soils and carbon sequestration. *Forest Ecology and Management* 220, 242–258.
- Landmann G., Nivet., C. (coord.), 2013. *Projet Resobio. Gestion des rémanents forestiers : préservation des sols et de la biodiversité.* Angers : ADEME, Paris : Ministère de l’agriculture, de l’agroalimentaire et de la forêt - GIP Ecofor. Rapport final, 248 p.
- Landmann, G., Gosselin, F., Bonhême, I. (coord.), 2009. *Bio 2. Biomasse et diversité forestière. Augmentation de l’utilisation de la biomasse forestière : implications pour la biodiversité et les ressources naturelles.* Paris, MEEDDM-ECOFOR 211p
- Lindahl, B.D., Ihrmark, K., Boberg, J., Trumbore, S.E., Högberg, P., Stenlid, J., Finlay, R.D., 2007. Spatial separation of litter decomposition and mycorrhizal nitrogen uptake in a boreal forest. *New Phytologist* 173, 611–620.
- Lindahl, B.D., Tunlid, A., 2015. Ectomycorrhizal fungi - potential organic matter decomposers, yet not saprotrophs. *New Phytologist* 205, 1443–1447. doi:10.1111/nph.13201
- Mahmood, S., Finlay, R.D., Erland, S., 1999. Effects of repeated harvesting of forest residues on the ectomycorrhizal community in a Swedish spruce forest. *New Phytologist* 142, 577–585.
- Malhi, Y., Baldocchi, D.D., Jarvis, P.G., 1999. The carbon balance of tropical, temperate and boreal forests. *Plant, Cell & Environment* 22, 715–740.
- Mandre, M., 2006. of young Scots pine, in: *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences, Biology and Ecology.* Estonian Academy Publishers, pp. 91–107.
- Massicotte, H.B., Molina, R., Tackaberry, L.E., Smith, J.E., Amaranthus, M.P., 1999. Diversity and host specificity of ectomycorrhizal fungi retrieved from three adjacent forest sites by five host species. *Canadian Journal of Botany* 77, 1053–1076.
- MEDDE-SOES. 2013, *Chiffres clés des énergies renouvelables, édition 2013*
- Mendham, D., Sankaran, K., O’Connell, A., Grove, T., 2002. Eucalyptus globulus harvest residue management effects on soil carbon and microbial biomass at 1 and 5 years after plantation establishment. *Soil Biology and Biochemistry* 34, 1903–1912.

- Ministerial Conference on the Protection of Forests in Europe (Eds.), 2011. State of Europe's forests 2011: status & trends in sustainable forest management in Europe, Forest Europe growing life. Ministerial Conference on the Protection of Forests in Europe, Oslo.
- Moilanen, M., Saarsalmi, A., Kukkola, M., Issakainen, J., 2013. Effects of stabilized wood ash on nutrient status and growth of Scots pine – Comparison between uplands and peatlands. *Forest Ecology and Management* 295, 136–144.
- Mosse, B., 1973. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Annual Review of Phytopathology* 11, 171–196.
- Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M., Landi, L., Pietramellara, G., Renella, G., 2003. Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science* 54, 655–670.
- Nambiar, E.K., Ranger, J., Tiarks, A., Toma, T. (Eds.), 2004. Site management and productivity in tropical plantation forests: proceedings of workshops in Congo July 2001 and China February 2003. Center for International Forestry Research, Bogor, Indonesia.
- Nambiar, E.K.S., Center for International Forestry Research (Eds.), 2008. Site management and productivity in tropical plantation forests: proceedings of workshops in Piracicaba (Brazil) 22-26 November 2004 and Bogor (Indonesia) 6-9 November 2006. Center for International Forestry Research, Bogor, Indonesia.
- Nordén, B., Ryberg, M., Götmark, F., Olausson, B., 2004. Relative importance of coarse and fine woody debris for the diversity of wood-inhabiting fungi in temperate broadleaf forests. *Biological Conservation* 117, 1–10.
- O'Connell, A., 2004. Impact of harvest residue management on soil nitrogen dynamics in Eucalyptus globulus plantations in south western Australia. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 39–48.
- Olsson, B., 1999. Effects of biomass removal in thinnings and compensatory fertilization on exchangeable base cation pools in acid forest soils. *For. Ecol. Manage.* 122, 29–39.
- Ortiz, C.A., Lundblad, M., Lundström, A., Stendahl, J., 2014. The effect of increased extraction of forest harvest residues on soil organic carbon accumulation in Sweden. *Biomass and Bioenergy* 70, 230–238.
- Perez-Batallon, P., Ouro, G., Macias, F., Merino, A., 2001. Initial mineralization of organic matter in a forest plantation soil following different logging residue management techniques. *Ann. For. Sci.* 58, 807–818.
- Phillips, L.A., Ward, V., Jones, M.D., 2014. Ectomycorrhizal fungi contribute to soil organic matter cycling in sub-boreal forests. *The ISME journal* 8, 699–713.
- Ponette, Q., Ranger, J., Ottorini, J.-M., Ulrich, E., 2001. Aboveground biomass and nutrient content of five Douglas-fir stands in France. *Forest Ecology and Management* 142, 109–127.
- Powers, R., Scott, D., Sanchez, F., Voldseth, R., Page-Dumroese, D., Elioff, J., Stone, D., 2005. The North American long-term soil productivity experiment: Findings from the first decade of research. *For. Ecol. Manage.* 220, 31–50.
- Rajala, T., Peltoniemi, M., Pennanen, T., Mäkipää, R., 2012. Fungal community dynamics in relation to substrate quality of decaying Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) logs in boreal forests. *FEMS Microbiology Ecology* 81, 494–505.

- Ranger, J., Bonneau, M., 1984. Effets prévisibles de l'intensification de la production et des récoltes sur la fertilité des sols de forêt. Le cycle biologique en forêt, *Revue Forestière Française* n° XXXVI - 2, pp. 93-112
- Ranger, J., Bonneau, M., 1986. Effets prévisibles de l'intensification de la production et des récoltes sur la fertilité des sols de forêt. Les effets de la sylviculture. *Revue Forestière Française* n° XXXVIII - 2, pp. 105-123
- Ranger, J., Colin-Belgrand, M., Nys, C. 1995. Le cycle biogéochimique des éléments majeurs dans les écosystèmes forestiers, importance dans les fonctionnements des sols. *Etude et gestion des sols* 2, 2, 119-134
- Ranger, J.; Allie, S.; Gelhaye, D.; Pollier, B.; Turpault, MP; Granier, A. 2002. Nutrient budgets for a rotation of a Douglas-fir plantation in the Beaujolais (France) based on a chronosequence study. *FOREST ECOLOGY AND MANAGEMENT* 171(1-2) 3:16)
- Rhodes, C.J., 2015. Fossil fuel use is limited by climate, if not by resources, and “Peak Soil.” *Science Progress* 98, 73–82.
- Rousk, J., Brookes, P.C., Baath, E., 2009. Contrasting Soil pH Effects on Fungal and Bacterial Growth Suggest Functional Redundancy in Carbon Mineralization. *Applied and Environmental Microbiology* 75, 1589–1596.
- Sayer, E.J., 2005. Using experimental manipulation to assess the roles of leaf litter in the functioning of forest ecosystems. *Biological Reviews* 81, 1.
- Seidl, R., Schelhaas, M.-J., Lexer, M.J., 2011. Unraveling the drivers of intensifying forest disturbance regimes in Europe: drivers of forest disturbance intensification. *Global Change Biology* 17, 2842–2852.
- Similä, M., Kouki, J., Martikainen, P., 2003. Saproxylic beetles in managed and seminatural Scots pine forests: quality of dead wood matters. *Forest Ecology and Management* 174, 365–381.
- Smolander, A., Kitunen, V., Tamminen, P., Kukkola, M., 2010. Removal of logging residue in Norway spruce thinning stands: Long-term changes in organic layer properties. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 1222–1228.
- Steffen, W., Broadgate, W., Deutsch, L., Gaffney, O., Ludwig, C., 2015. The trajectory of the Anthropocene: The Great Acceleration. *The Anthropocene Review*.
- Steffen, W., Richardson, K., Rockstrom, J., Cornell, S.E., Fetzer, I., Bennett, E.M., Biggs, R., Carpenter, S.R., de Vries, W., de Wit, C.A., Folke, C., Gerten, D., Heinke, J., Mace, G.M., Persson, L.M., Ramanathan, V., Reyers, B., Sorlin, S., 2015. Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet. *Science* 347, 1259855–1259855.
- Talbot, J.M., Bruns, T.D., Smith, D.P., Branco, S., Glassman, S.I., Erlandson, S., Vilgalys, R., Peay, K.G., 2013. Independent roles of ectomycorrhizal and saprotrophic communities in soil organic matter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry* 57, 282–291.
- Tan, X., Chang, S.X., Kabzems, R., 2005. Effects of soil compaction and forest floor removal on soil microbial properties and N transformations in a boreal forest long-term soil productivity study. *Forest Ecology and Management* 217, 158–170.
- Tarvainen, O., Hekkala, A.-M., Kubin, E., Tamminen, P., Murto, T., Tolvanen, A., 2015. Soil disturbance and early vegetation response to varying intensity of energy wood harvest. *Forest Ecology and Management* 348, 153–163.

- Tedersoo, L., Kõljalg, U., Hallenberg, N., Larsson, K.-H., 2003. Fine scale distribution of ectomycorrhizal fungi and roots across substrate layers including coarse woody debris in a mixed forest. *New Phytologist* 159, 153–165
- Tedersoo, L., May, T.W., Smith, M.E., 2010. Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza* 20, 217–263.
- Thiffault, E., Hannam, K.D., Paré, D., Titus, B.D., Hazlett, P.W., Maynard, D.G., Brais, S., 2011. Effects of forest biomass harvesting on soil productivity in boreal and temperate forests - A review. *Environmental Reviews* 19, 278–309.
- Thuiller, W., Albert, C., Araújo, M.B., Berry, P.M., Cabeza, M., Guisan, A., Hickler, T., Midgley, G.F., Paterson, J., Schurr, F.M., Sykes, M.T., Zimmermann, N.E., 2008. Predicting global change impacts on plant species' distributions: Future challenges. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 9, 137–152.
- Tyler, G., 1991. Effects of litter treatments on the sporophore production of beech forest macrofungi. *Mycol. Res.* 95 (9): 1137-1139
- Uroz, S., Ioannidis, P., Lengelle, J., Cébron, A., Morin, E., Buée, M., Martin, F., 2013. Functional Assays and Metagenomic Analyses Reveals Differences between the Microbial Communities Inhabiting the Soil Horizons of a Norway Spruce Plantation. *PLoS ONE* 8, e55929.
- Walker, J.K.M., Ward, V., Paterson, C., Jones, M.D., 2012. Coarse woody debris retention in subalpine clearcuts affects ectomycorrhizal root tip community structure within fifteen years of harvest. *Applied Soil Ecology* 60, 5–15.
- Wall, A., 2012. Risk analysis of effects of whole-tree harvesting on site productivity. *Forest Ecology and Management* 282, 175–184.
- Wall, A., Hytönen, J., 2011. The long-term effects of logging residue removal on forest floor nutrient capital, foliar chemistry and growth of a Norway spruce stand. *Biomass and Bioenergy* 35, 3328–3334.
- Weintraub, S.R., Wieder, W.R., Cleveland, C.C., Townsend, A.R., 2013. Organic matter inputs shift soil enzyme activity and allocation patterns in a wet tropical forest. *Biogeochemistry* 114, 313–326.
- Work, T.T., Klimaszewski, J., Thiffault, E., Bourdon, C., Paré, D., Bousquet, Y., Venier, L., Titus, B., 2013. Initial responses of rove and ground beetles (Coleoptera, Staphylinidae, Carabidae) to removal of logging residues following clearcut harvesting in the boreal forest of Quebec, Canada. *ZooKeys* 258, 31–52.
- Zang, C., Rothe, A., 2013. Effect of nutrient removal on radial growth of *Pinus sylvestris* and *Quercus petraea* in Southern Germany. *Annals of Forest Science* 70, 143–149.

CHAPITRE II

Mise en place d'un réseau de suivi des écosystèmes forestiers
sur le long terme : Caractérisation initiale et prise en compte
de la variabilité locale

Ces questionnements sur les possibles évolutions de la filière forêt-bois en France et de ses débouchés mettent en lumière le besoin d'un dispositif adapté au contexte tempéré des forêts françaises, qui évaluerait les effets de différents niveaux de prélèvement de biomasse forestière sur une échelle temporelle qui intégrant les réponses à court, moyen et long terme. C'est dans ce contexte que s'est amorcée l'élaboration du réseau MOS (Matières Organiques des Sols) pour suivre les effets des prélèvements de litière et des menus-bois sur la fertilité chimique, la productivité et la biodiversité des sols forestiers à l'échelle de la forêt française.

1. Description et enjeux du réseau Matières Organiques des Sols

1.1 Objectifs

L'élaboration et la caractérisation initiale du réseau MOS ont représenté la part essentielle de ce projet de thèse, qui a constitué le point T0 de ce dispositif prévu sur le long terme. Il s'agit d'un réseau de 18 placettes permanentes, conçu pour pallier le manque d'informations sur les effets des exportations de biomasse sur la fertilité et la biodiversité des sols forestiers en contexte tempéré et sur plusieurs pas de temps. Etabli à l'échelle du territoire métropolitain, il devrait apporter un éclairage pluridisciplinaire adapté aux écosystèmes et aux pratiques sylvicoles françaises, en partie dans le cadre du projet RESPIRE financé par l'ADEME (partenariat INRA, ONF RDI, Université de Lorraine, Université de Rouen) :

- Suivi des impacts des manipulations de matière organique sur la pérennité de la fertilité chimique et des flux biogéochimiques
- Suivi des impacts des manipulations de matière sur les communautés microbiennes du sol et du bois mort ainsi que sur la macro/mésafaune
- Restauration de certaines fonctions par des mesures de fertilisation compensatoire et par retour en forêt des cendres de chaufferie-bois
- Suivi des impacts des manipulations de matière organique sur la productivité des peuplements à moyen ou long terme

Les données acquises à mesure de l'avancement du réseau permettront de compléter les connaissances actuelles du fonctionnement des écosystèmes forestiers et de leur réponse aux contraintes majeures. Le réseau MOS aura pour mission l'identification du niveau de résilience des écosystèmes forestiers face à l'intensification des prélèvements de biomasse.

Plus particulièrement, l'analyse couplée des flux biogéochimiques et de la biodiversité pourrait permettre l'identification d'un seuil critique de non-retour à l'équilibre des flux biogéochimiques et / ou de seuils de richesses microbiennes à partir desquels la restauration de l'équilibre n'est plus possible avec une éventuelle mise en évidence d'espèces clefs de voûte caractéristiques de la diversité biologique et fonctionnelle. Dans une plus large perspective, cette approche multidisciplinaire servira de point de départ à l'intégration des composantes de richesse spécifique/diversité dans les modèles croissance/production des peuplements forestiers.

1.2 Descriptif du dispositif

Le réseau MOS a vocation à suivre les réponses de l'écosystème forestier sur un pas de temps minimum de vingt à trente ans. Quatre modalités de traitements des rémanents y sont étudiées, présentant un niveau croissant d'exportations de biomasse.

- **contrôle** : le peuplement est géré selon une sylviculture traditionnelle, en laissant sur place les rémanents après exploitation.

- **retrait des rémanents** : lors de l'éclaircie, tous les menus-bois et le houppier sont exportés en même temps que la grume.

- **retrait des rémanents avec apports compensatoires de cendres** : l'arbre entier est récolté (houppier et grume) mais l'exportation de biomasse est compensée par un apport de cendres, équivalent en termes d'éléments nutritifs.

- **retrait des rémanents et de la litière au sol** : l'arbre entier est exploité lors de l'éclaircie et la litière est récoltée chaque année après la chute des feuilles.

Les éclaircies suivent les rotations prévues par les plans d'aménagement (entre 6 et 8 ans), les modalités de retrait des rémanents correspondent donc à une exploitation par arbre entier. Le traitement de retrait de la litière au sol, répété chaque année, bien qu'ayant aucune réalité sylvicole actuelle (Achat et al., 2015), offre une modalité qui contraint l'écosystème à l'extrême.

Afin de capter le plus finement possible les éventuels effets de ces traitements, la surface des placettes expérimentales doit permettre de les observer à l'échelle de l'ensemble du peuplement (Fayle et al., 2015). Nous avons donc opté pour des placettes de 40 m par 40 m, soit 1600 m². Cela semble une surface minimale, comptant un nombre d'arbres suffisant pour

rester représentatif d'un peuplement, une condition essentielle pour suivre les impacts de croissance/production. De plus, la dispersion des hyphes mycéliens sur des surfaces de plusieurs dizaines de mètres carrées nécessite une emprise assez large pour déceler les réponses des communautés fongiques à l'échelle d'une parcelle forestière.

Chaque traitement fait l'objet de trois répétitions, ce qui conduit à un total de 12 placettes de 1600 m² par site expérimental, un site s'étendant sur environ **2 ha**.

1.3 Choix des sites et prospection

1.3.1 Critères sylvicoles et pédoclimatiques de sélection des sites MOS

Choix des essences étudiées

Trois essences sont étudiées : le hêtre (*Fagus sylvatica* L.), le chêne sessile (*Quercus petraea* Liebl.) et le sapin de Douglas (*Pseudotsuga menziensis* Mirb.). Le réseau compte alors six sites expérimentaux pour chaque essence.

L'idée est de travailler sur des peuplements de plaine représentatifs de la forêt française et susceptibles de faire l'objet d'un prélèvement plus intense de biomasse forestière. Nous avons d'emblée exclu les massifs d'altitude : du fait de leur difficulté d'accessibilité et d'exploitabilité, ils ne représentent pas un gisement prioritaire de biomasse dans le but d'alimenter la filière bois-énergie.

Ces trois essences constituent une part importante de la production de bois d'œuvre et de construction en France. Le hêtre et le chêne sont les principales essences de production en France, représentant à elles deux 52% du volume total de production feuillue (IGN, 2012). Elles seraient en effet les premières concernées par l'exploitation des rémanents à la suite des prélèvements de bois d'œuvre. Le Douglas constitue une essence à fort potentiel dans un contexte de plantations à vocation de production de biomasse, en plus des usages actuels de bois d'œuvre, en particulier pour les propriétaires forestiers privés.

Choix des peuplements

Dans un souci de représentativité des forêts de production françaises, nous prenons en compte une diversité de contextes pédoclimatiques des peuplements de plaine. Nous évitons en revanche les fortes contraintes initiales qui pourraient s'additionner aux effets provoqués expérimentalement. Afin de limiter les biais expérimentaux, il est préférable que les peuplements soient purs avec peu de végétation au sol, ce qui pourrait interférer dans les

modalités de retrait de la litière. Les sols fortement hydromorphes, superficiels ou riches en éléments grossiers sont exclus, ainsi que les sites présentant une forte pente. Un dénivelé trop important introduit une répartition différentielle des flux géochimiques et des ruissellements.

Dans la perspective de suivre la croissance des peuplements, on souhaite également se placer proche du maximum de l'accroissement courant annuel (m³/ha/an), autour de 20-35 ans pour le Douglas, et entre 30 et 60 ans pour les feuillus (figures II.1 et II.2). Cette première phase de développement du peuplement, depuis la plantation/régénération à la période d'accroissement courant maximum, voit les besoins en éléments nutritifs couverts majoritairement par les prélèvements dans le sol par rapport aux translocations. Cette période correspond à un âge où le peuplement est particulièrement sensible à disponibilité en nutriments.

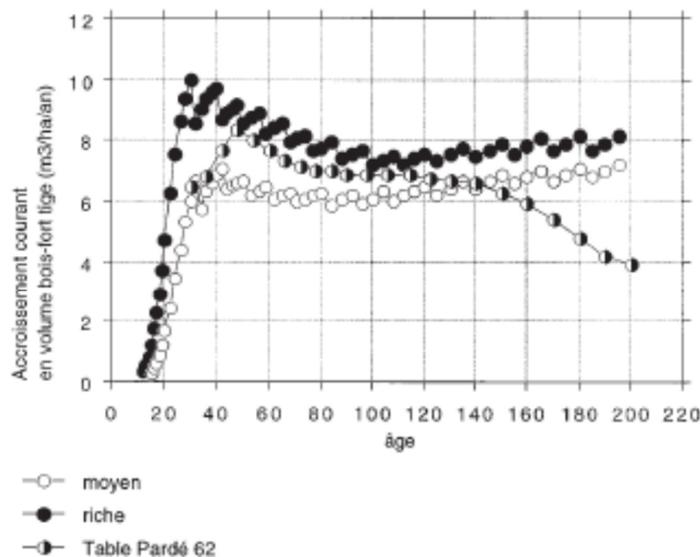


Figure II.1 : Table de production pour le chêne sessile : accroissement annuel courant volume bois fort-tige (Dhôte & Rittié, 2000)

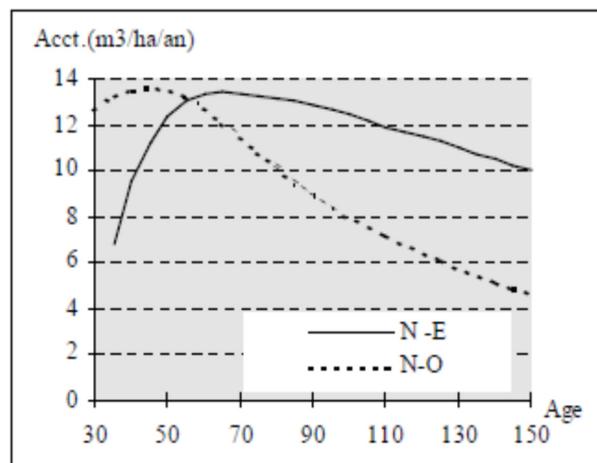


Figure II.2 : Table de production pour le hêtre : accroissement annuel courant volume bois fort-tige (cours FIF-ENGREF « Sylviculture du hêtre », Bastien, 2000)

De plus, les cortèges microbiens, en particulier fongiques sont encore peu affectés par l'essence dominante (Buée et al., 2011).

Choix des sites expérimentaux

Pour des raisons pratiques de faisabilité, j'ai restreint mon travail de thèse à la prospection et la mise en place des douze sites feuillus du réseau MOS. Il ne sera donc pas question des sites en peuplement de Douglas, dont la prospection demeure inachevée.

Les peuplements de chêne et de hêtre ont été présélectionnés de façon à couvrir un gradient représentatif de conditions climatiques et pédologiques sur une grande moitié nord de la France, constituée de trois grands bassins de production et de présence naturelle des essences: Grand-Est, Nord-Ouest (bassin parisien) et Centre.

Les parcelles devaient passer en coupe à l'hiver 2012/2013 ou 2013/2014 pour un souci de réalisme expérimental, la récolte des rémanents intervenant à la suite de l'éclaircie.

Récapitulatifs des types de peuplements requis pour les expérimentations :

- Peuplements de plaine purs, denses, avec peu de végétation au sol
- Sur des stations sans contrainte particulière : à exclure hydromorphie, sols superficiels, forte pente, etc.
- Situés proche de l'accroissement courant annuel maximal : 20-35 ans pour le Douglas, et entre 30 et 60 ans pour les feuillus (suivant les régions et les classes de fertilité)
- Nécessité d'une parcelle de surface d'au moins 2 ha
- Passage en éclaircie à l'hiver 2012-2013 ou 2013/2014

Respecter l'ensemble de ces critères a rendu la prospection des sites particulièrement restrictive et contraignante. Une présélection de parcelles en forêt publique a été réalisée par Noémie Pousse du département RDI de l'ONF auprès des gestionnaires sur place à partir de massifs que nous avons identifiés au préalable. Cette présélection des grands massifs potentiellement convenables a été menée en s'appuyant sur des massifs déjà étudiés dans le cadre d'autres projets comme les dispositifs SOERE F-ORET, RENECOFOR, Coopérative GIS Chêne ou du dispositif Chêne du Lerfob.

	Nombre de massifs présélectionnés et contactés	Nombres de parcelles prospectées sur le terrain
Chêne	12	11
Hêtre	11	16

A l'issue de cette phase, six parcelles par essence sont retenues dont dix en forêt domaniale, une en forêt communale et une en forêt privée.

1.3.2 Localisation et caractéristiques des sites feuillus

Les sites chênes retenus se situent en Alsace-Lorraine, en Picardie et région parisienne et dans l'Allier. Les sites hêtres s'étendent de la région Grand-Ouest (Haute-Normandie et Picardie) à la Lorraine et à la Franche-Comté. Ils couvrent un gradient représentatif de fertilité et de conditions climatiques de forêts de production en plaine (figure II.3).

Les peuplements sont issus de régénération naturelle, excepté les deux sites de Compiègne et celui de Gaillefontaine, qui ont été plantés, et celui de Fontainebleau où des plants ont été introduits en appui d'une régénération naturelle. Malgré la volonté de travailler en peuplements purs, il est à noter la présence d'une ou deux essences secondaires dans plusieurs parcelles. La plupart des peuplements de chênes sont accompagnés d'un sous étage de charme (*Carpinus betulus* L.) ou de hêtre (*Fagus sylvatica* L.), plus rarement de tilleuls ou de fruitiers (*Sorbus* sp.). Sur le site de Fontainebleau, on relève la présence en sous-étage de merisier à grappes (*Prunus padus* L.), espèce exotique au comportement invasif. Néanmoins, il ne représente qu'une proportion de 12% environ en termes de surface terrière.

Les parcelles de hêtre sont plus fréquemment pures. Le site de Verrière du Grosbois fait part d'une diversité spécifique plus importante (*Acer* et *Sorbus*) principalement en sous-étage ou strate herbacée (régénération). On observe sur les deux sites vosgiens la présence en faible proportion (<20%) de chênes rouges d'Amérique, reliquat de plantations effectuées à la suite de la tempête de 1984. La table II.1 synthétise ces caractéristiques.

Forêt	Code	Age	Essence	Coordonnées GPS Lambert93		Gmoy (m ² /ha)	H0 (m)	Altitude (m)	Nb tiges/ha	Humus	Texture du sol	Essences secondaires
				dirN	dirE							
FD Champenoux (54)	CHAMP	40 ans	chêne	6852020,92	945689,364	27,0	16,3	280	1745,2	eumull/mesomull	argilo-limoneux	charme/hêtre
FD Compiègne (60)	CompCHE	28-30 ans	chêne	6915274,946	695540,978	19,7	13,0	180	1215,4	eumull/mesomull	limono-sableux	hêtre
FD Fontainebleau (77)	FONT	40 ans	chêne	6810531,06	682549,06	23,5	12,0	135	1878,0	moder	sableux	charme/merisier
FD Prieuré Grosbois (03)	GRO	40 ans	chêne	6599998,07	698904,55	20,9	16,4	319	1527,9	dysmull	sableux	charme/hêtre
FC de Reichshoffen (67)	REICH	40 ans	chêne	6882801,68	1041673,38	21,3	16,5	270	1473,3	mesomull/dysmull	limoneux	charme/hêtre
FD Tronçais (03)	TRON	50 ans	chêne	6614238,341	678776,152	25,6	17,2	270	1473,3	mesomull/dysmull	sablo-limoneux	charme/hêtre
FD Ban d'Harol (88)	BAN	30-35 ans	hêtre	6783156,555	938890,691	36,3	15,6	422	3565,0	mesomull	Sablo-limoneux	chêne rouge
FD Compiègne (60)	CompHET	41 ans	hêtre	6914427,844	695219,111	13,5	20,0	185	445,6	eumull	limono-sableux	-
FD Darney (88)	DAR	30-40 ans	hêtre	6779652,205	936520,613	23,8	18,3	500	2898,5	mesomull/dysmull	limono-sableux	chêne rouge
Gaillefontaine (76)	GAILL	40 ans	hêtre	6952055,79	602895,66	25,3	16,5	290	848,8	eumull/mesomull	brun limoneux	chêne sessile
FD Saint-Quirin (57)	QUIR	30-35 ans	hêtre	6842790,239	996528,371	42,3	15,5	400	2885,9	mesomull/oligomull	limono-sableux	bouleau
FD de la Verrière du Grosbois (25)	VERR	50-60 ans	hêtre	6683070,99	948588,35	24,6	21,6	585	458,4	eumull	brun limoneux	divers

Table II.1 : Caractéristiques des sites expérimentaux chênes et hêtres

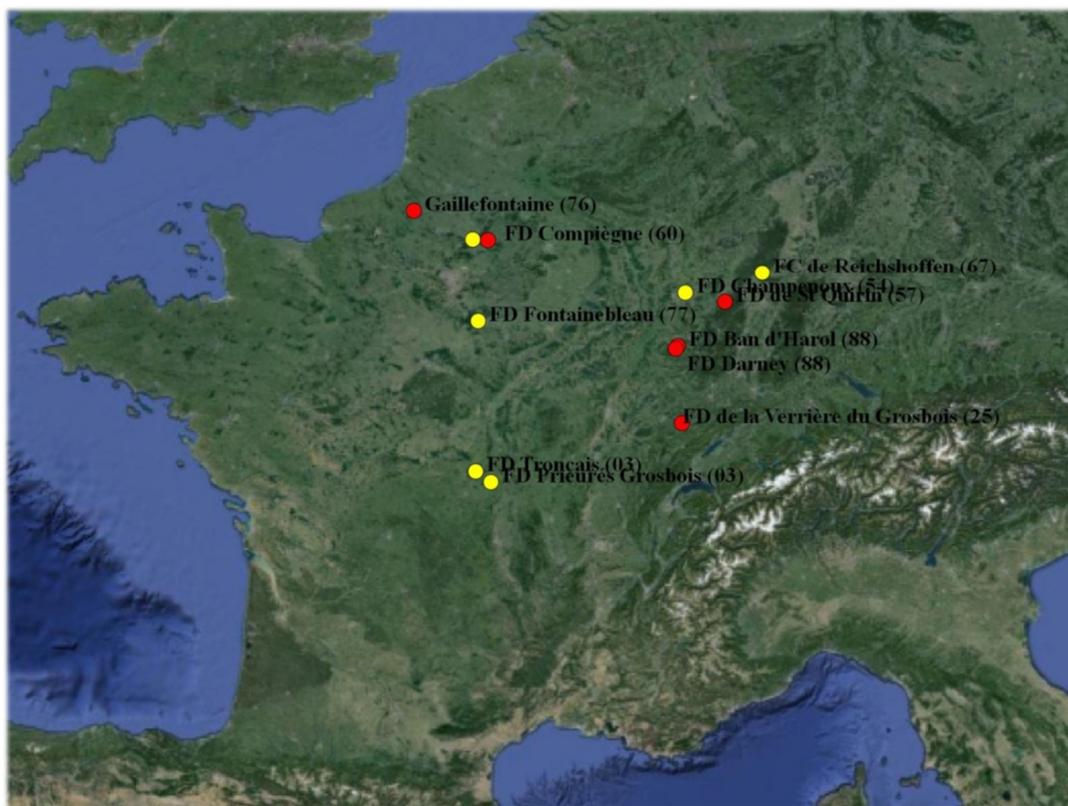


Figure II.3 : Localisation des sites expérimentaux chêne et hêtre du réseau MOS

1.3.3 Prise en compte de l'évolution prédite des aires de répartition des essences forestières à l'horizon 2100

Les modèles de répartition des espèces prévoient d'ici cent ans une modification de la distribution spécifique à l'échelle de la France, en réponse au changement climatique en cours. Ce dernier se traduit par une hausse des températures moyennes, une diminution des précipitations et une augmentation en fréquence des événements climatiques extrêmes (tempêtes, amplitude thermique, sécheresse intense, etc.), d'intensité variable selon le scénario considéré. Les modèles de prédiction climatique envisagent une augmentation des températures moyennes entre 2 et 4°C pour 2100 selon les scénarii (Badeau et al., 2004 ; Déqué, 2007 in Piedallu et al., 2009). Ces modifications impactent les espèces végétales en termes de productivité ainsi que leur aires de répartition, amenées à se déplacer vers des zones plus favorables climatiquement, plus généralement vers le nord et les régions d'altitude (Piedallu et al., 2009). Le chêne sessile serait moyennement menacé dans les prévisions les plus probables et maintiendrait sa présence dans de nombreuses régions. Le hêtre, en revanche, est le plus menacé dans les scénarii évoqués, du fait

de sa sensibilité au déficit hydrique et à la disponibilité en eau (Gessler et al., 2007). Il serait amené à disparaître dans ses aires limites de répartition et dans les stations les plus chaudes et sèches de l'ouest et du sud pour se maintenir essentiellement dans les massifs d'altitude et dans le quart nord-est (Badeau et al., 2004 ; Piedallu et al., 2009 ; Cheiab et al., 2012).

Dans la perspective d'établir un réseau d'observation sur le long terme, la dimension « changement climatique » a été aussi prise en compte dans le choix de l'emplacement des sites MOS. Nous avons alors considéré, dans le choix des zones d'étude, les aires de répartition actuelles des essences et les aires futures modélisées pour 2100 (Badeau et al., 2004). Certains sites ont été choisis dans des zones de présence menacée, notamment pour le hêtre, pour lequel deux sites ont été positionnés en région grand-ouest.

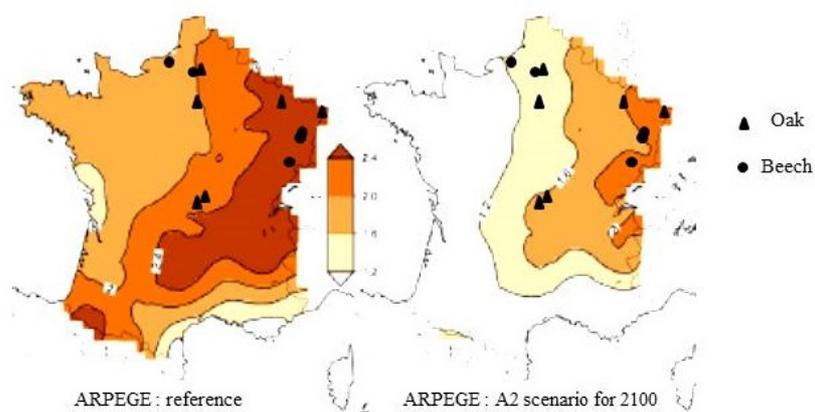


Figure II.4 : localisation des sites MOS chênes et hêtres superposée aux cartes comparatives des précipitations moyennes journalières (mm/an) pour la saison estivale entre la situation actuelle (gauche) et celle modélisée pour 2100, en s'appuyant sur le scénario A2 du Giec

Les modèles prédictifs annoncent, selon des intensités modulées, une augmentation des températures, un recul des précipitations annuelles moyennes et une intensification des déficits hydriques printaniers et estivaux dans les régions les plus méridionales ainsi que sur la façade ouest océanique (figure II.4). Une hausse des températures moyennes de 3.4°C, comme proposée par le scénario A2 du GIEC semble tout à fait envisageable d'ici 2100. La carte générée par le modèle ARPEGE d'après ces prévisions (Figure II.4) illustre une probable modification du régime de précipitations pour 2100, avec une diminution significative des précipitations estivales, d'autant plus conséquentes dans les régions du Sud et de l'Ouest.

La hêtraie atlantique est particulièrement compromise à l'horizon 2100, notamment en raison des conditions hydriques qui deviendraient de plus en plus défavorables, ce qui amène les gestionnaires forestiers à reconsidérer la présence du hêtre sur la côte atlantique (*Rendez-vous techniques ONF*, hors-série 2007). Le site MOS de Gaillefontaine, situé en Haute-Normandie, et celui de Compiègne (Picardie), pourrait souffrir de conditions climatiques moins favorables aux peuplements d'ici plusieurs années. Ces sites sont particulièrement intéressants en tant que sites « sentinelles » face à des effets cumulés des manipulations de matière organique et des éventuelles modifications climatiques. Une sécheresse intense provoque un ralentissement de la croissance des peuplements qui peut s'accompagner d'une vulnérabilité aux événements extérieurs : attaques de pathogènes, perturbations climatiques, etc. Une exportation massive de biomasse pourrait accentuer la sensibilité du peuplement.

A l'inverse, les sites installés au Nord-Est sur le plateau vosgien bénéficieront des conditions optimales, non menacées par le changement climatique, offrant ainsi une base de comparaison intéressante.

2. Prise en compte de la variabilité locale des sols en amont de l'installation du dispositif

Les sites expérimentaux du réseau MOS ont vocation à suivre les réponses des écosystèmes forestiers sur une échelle représentative d'une parcelle forestière, nécessitant une surface d'environ 2 ha. L'étude des communautés et des questions de croissance/production implique un suivi sur un pas de temps supérieur à vingt ans. De par cette projection sur le long terme, il apparaît indispensable de décrire le plus finement possible l'état initial des sites expérimentaux avant perturbation de l'écosystème ainsi que de tenir compte de l'hétérogénéité initiale des sites dans l'élaboration des dispositifs, à la fois au niveau des peuplements et du sol. La problématique principale est alors de s'affranchir des interactions entre les effets des traitements testés dans le cadre expérimental et d'éventuels biais dus à une variabilité locale au sein des peuplements ou des propriétés pédologiques : répartition hétérogène des quantités ou qualités de matière organique, stocks d'éléments échangeables, microtopographie, etc.

Pourtant, sur les grands réseaux forestiers existants, la prise en considération en amont de la variabilité locale est rarement évoquée dans l'élaboration des dispositifs expérimentaux *in situ*.

2.1 Cas des réseaux existants de suivi des écosystèmes forestiers

A l'échelle mondiale, il existe trois grands réseaux couvrant les zones tropicales, boréales et tempérées établis pour évaluer les effets à court et long terme de prélèvements plus ou moins importants de biomasse forestière sur les aspects de fertilité et de productivité des sols :

- le réseau CIFOR (Center For International Forestry Research) en milieu tropical en Afrique, Asie et Amérique latine teste plusieurs formes de gestion forestière et différents niveaux d'exportation de biomasse allant jusqu'au retrait de litière avec un recul de vingt ans sur un large panel d'essences et de conditions pédoclimatiques différentes (Nambiar et al., 1999 ; Nambiar et al., 2003),

- le réseau Fennoscandien, constitué d'un ensemble de sites en zone boréale et sub-boréale (Norvège, Suède, Finlande) observe les impacts d'une sylviculture plus ou moins intensive depuis une quarantaine d'années, en particulier les effets de la récolte par arbre entier, le dessouchage et l'exploitation des rémanents à des fins énergétiques, ainsi que des modalités de fertilisation compensatoire (Hemilisaari et al., 2011).

- le réseau Nord-Américain LTSP (long-term soil productivity), qui couvre un large spectre de contextes biogéographiques, du boréal au méditerranéen au Canada et aux Etats-Unis. Avec un recul de 15-20 ans, il teste sur chaque site plusieurs modalités de tassements du sol d'intensité variable et d'exportations de matière organique allant de la récolte de grume seule au retrait des rémanents et de la litière forestière (Powers et al., 2005 ; Ponders et al., 2012).

Les sites expérimentaux s'étendent en général sur des surfaces représentatives d'une parcelle forestière productive, entre 1 et 3 ha sur le réseau CIFOR et autour de 3.5 et 4 ha sur les réseaux LTSP et fennoscandien. Trois à cinq modalités d'intensité croissante sont testées sur chaque site, divisé en placeaux de 20 à 40 m de côté. Sur ces trois exemples de réseau, les traitements sont généralement répétés 2 à 4 fois sur chaque site et leur disposition est tirée aléatoirement dans le souci de minimiser les effets de la variabilité intra-site, notamment celle des caractéristiques dendrométriques (Nambiar et al., 2004; Hope, 2006; Smolander et al., 2010; Hemilisaari et al., 2011). Sur les dispositifs LTSP et d'Europe du Nord, il est mentionné la réalisation de prélèvements de sol préliminaires servant de références avant intervention (Holcomb, 1996; Hope, 2006; Hemilisaari et al., 2011). En revanche, il n'est jamais mentionné de croisement entre

les caractéristiques pédologiques et dendrométriques collectées et le tirage aléatoire de la disposition des traitements, ce qui garantirait l'absence d'interaction entre traitement et effet site. La question semble moins nécessaire sur le dispositif CIFOR, pour lequel la plupart des sites correspondent à des plantations monospécifiques et homogènes (Nambiar et al., 1999 ; Nambiar et al., 2003).

Cette question de l'hétérogénéité spatiale des sols en amont des traitements a été soulevée, par exemple, en 2010 dans le cadre d'une étude concernant les impacts de l'ozone sur une prairie permanente. Le dispositif avait été installé en 1998 mais des analyses réalisées *a posteriori* ont révélé que les conclusions obtenues à l'époque étaient réfutables en raison d'une confusion entre les effets des traitements testés et la répartition des stocks en éléments nutritifs au sein de la parcelle expérimentale (Stampfli & Fuhrer, 2010). La disposition des traitements avait été tirée aléatoirement au sein du dispositif d'environ 1.5 ha, mais les éventuelles interactions avec l'hétérogénéité spatiale des sols n'avaient pas été prises en compte avant la mise en place des traitements.

Sur ces réseaux à perspective de long terme, l'éventuelle hétérogénéité initiale n'est pas considérée en amont, excepté par la caractérisation initiale des peuplements et des sols par analyse chimique. Néanmoins, en raison de leur coût temporel et financier, ces analyses ne sont réalisées qu'à titre descriptif sur un faible nombre d'échantillons. Elles ne permettent pas de rendre compte de la variabilité locale à l'échelle de la placette, qui pourrait interférer avec la disposition des traitements testés.

2.2 Recherche d'un outil efficace dans la caractérisation de la variabilité intra-site : utilisation de la spectroscopie infrarouge

La prise en compte de la variabilité intra-site et la caractérisation précise des sols sur une surface de 2 ha telle que celle des sites expérimentaux du réseau MOS nécessite un quadrillage fin de la zone pour ne pas occulter les variations très localisées des propriétés des sols. Un tel échantillonnage implique alors un nombre conséquent de prélèvements, ce qui s'accompagne d'un coup élevé dans le cas d'analyses chimiques traditionnelles.

La spectrométrie proche et moyen infrarouge (NIRS/MIRS) apparaît comme un outil de substitution idéal. Elle repose sur le principe de réflexion d'un rayon infrarouge sur la surface de l'échantillon. Le signal est renvoyé sous forme d'un spectre unique, signature propre à chaque échantillon selon ses propriétés physiques et chimiques. Cette technique est rapide, non-

destructive et peu coûteuse en comparaison aux analyses physico-chimiques habituelles. Fréquemment utilisée en sciences du sol, la spectrométrie infrarouge constitue un outil intégratif des propriétés physiques et chimiques des sols qui permet de décrire les matières organiques (Barthès et al., 2008; Ludwig et al., 2008 ; Cécillon et al., 2009), les stocks de carbone et d'azote (Dalal & Henry, 1986; Morra et al., 1991; He et al., 2005; Barthès et al., 2006; Brunet et al., 2007; Cécillon & Brun, 2010), la texture et la capacité d'échange cationique des sols. Les stocks en éléments minéraux sont prédits après calibration par régressions multivariées, en utilisant des modèles de type régression PLS (Brunet et al., 2007 ; Bikindou et al., 2012).

Les données spectrales peuvent renseigner aussi sur la dimension biologique du fonctionnement des sols en rendant compte de certaines activités enzymatiques extracellulaires (Albrecht et al., 2008), des taux de respiration ou de biomasse microbienne (Soriano-Disla et al., 2010).

Les spectres infrarouges intègrent une large gamme de propriétés chimiques, physiques et biologiques des sols qui constitueraient un outil adapté pour capter la globalité de l'hétérogénéité intra-site sur une surface minimale de deux hectares.

Le but de ce chapitre est de montrer que la spectrométrie proche et moyen infrarouge est un outil efficace pour caractériser la variabilité locale des sols forestiers pour diverses propriétés chimique. Ainsi, les analyses spectrales MIR et NIR caractérisant les sols, croisées avec les descriptions dendrométriques des peuplements permettraient de décrire la variabilité spatiale à l'échelle de la placette expérimentale. Cette méthodologie a servi de fondement à l'élaboration d'un dispositif expérimental *in situ*, en tenant compte des hétérogénéités initiales des sols et des peuplements. Il s'appuie sur onze sites expérimentaux du réseau MOS pour lesquels les sols et les peuplements ont été caractérisés (T0) et la disposition des 4 traitements testés a été tirée aléatoirement. Ce chapitre a fait l'objet d'un article accepté par la revue *Annals of Forest Sciences*.

3. Article n°1: Improving the design of long-term monitoring experiments in forest: a new method for the assessment of local soil variability combining infrared spectroscopy and dendrometric data

Emila AKROUME*, Bernd ZELLER, Marc BUEE, Philippe SANTENOISE, Laurent SAINT-ANDRE

Emila AKROUME*, INRA, Centre de Lorraine, UR 1138, Biogéochimie des Ecosystèmes Forestiers (BEF), Labex ARBRE, 54280 Champenoux (France)

INRA, Centre de Lorraine, UMR 1136, Interactions Arbres-Microorganismes (IAM), Labex ARBRE, 54280 Champenoux (France)

AgroParisTech, Centre de Nancy, F-54000 Nancy

Email : emila.akroume@agroparistech.fr

Bernd ZELLER, INRA, Centre de Lorraine, UR 1138, Biogéochimie des Ecosystèmes Forestiers (BEF), Labex ARBRE, 54280 Champenoux (France)

Email: zeller@nancy.inra.fr

Marc BUEE, INRA, Centre de Lorraine, UMR 1136, Interactions Arbres-Microorganismes (IAM), Labex ARBRE, 54280 Champenoux (France)

Email : buee@nancy.inra.fr

Philippe SANTENOISE, INRA, Centre de Lorraine, UR 1138, Biogéochimie des Ecosystèmes Forestiers (BEF), Labex ARBRE, 54280 Champenoux (France)

Email : psantenoise@nancy.inra.fr

Laurent SAINT-ANDRE, INRA, Centre de Lorraine, UR 1138, Biogéochimie des Ecosystèmes Forestiers (BEF), Labex ARBRE, 54280 Champenoux (France)

CIRAD, UMR Eco&Sols (Ecologie Fonctionnelle & Biogéochimie des Sols & Agroécosystèmes), Place Viala, F-34060 Montpellier, France

Email: st-andre@nancy.inra.fr

Running head: NIRS-MIRS, a tool for designing *in situ* experiment

Keywords: forest long-term ecological research, local soil variability, experimental design, near-mid infrared spectroscopy

Contribution of the co-authors: E.A realized the field and laboratory work, conducted the data analyses and wrote the paper. L.S.A, M.B and B.Z designed the experiment, realized the field work supervised the work and coordinated the research project. PhS developed the algorithms to analyse NIR and MIR spectra.

Fundings: French Agency for Environment and Energy Management (ADEME) through the RESPIRE project, by ANAEE-F and the European Regional Development Fund (M-POETE). This work was supported by a grant overseen by the French National Research Agency (ANR) as part of the "Investissements d'Avenir" program (ANR-11-LABX-0002-01, Lab of Excellence ARBRE).

EA's PhD is funded by Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt.

Acknowledgement: We would like to thank the Office national des Forêts and the private owners for their collaboration and their permission for the achievement of the MOS network project. We also thank the Office national des Forêts and the Protection Judiciaire de la Jeunesse for the technical support, as well as all the students and colleagues who participated to the sampling campaigns. Language was revised by American Journal Experts association.

Abstract

Key message: Near- and mid-infrared spectroscopy allows for the detection of local patterns of forest soil properties. In combination with dendrometric data, it may be used as a prospective tool for determining soil heterogeneity before setting up long-term forest monitoring experiments.

Context: Forest soils and stands generally exhibit higher spatial heterogeneity than other terrestrial ecosystems. This variability needs to be taken into account before setting up long-term forest monitoring experiments to avoid multiple interactions between local heterogeneity and the factors tested in the experiment.

Aims: We hypothesized that raw near- and mid-infrared spectra can be used as an integrated proxy of a large set of soil properties. The use of this method, in combination with dendrometric data, should provide a quick and cost-effective tool for optimizing the design of experimental forest sites.

Methods: We assessed the local soil heterogeneity at eleven experimental sites in oak and beech stands, which belong to a new forest long-term ecological research (LTER) network. We used near- and mid-infrared spectroscopy in soil and litter samples. The spectra were subjected to principal components analyses (PCA) to determine the intra-site variability of the soil and litter layers.

Results: Based on mapped PCA coordinates and basic dendrometric data, it was possible to design the experiment and minimize the interactions between the treatment layout and the tested variables. The method was validated with chemical analyses of the soil. No interaction was detected at the set-up of the experiment between the treatment layout and chemical soil properties (C, N, C/N ratio, pH, CEC, Al, Mg, P₂O₅, Fe, Mn, Na, and K).

Conclusion: Near-infrared (NIR) and mid-infrared (MIR) spectroscopy is a useful tool for characterizing the overall heterogeneity of soil chemical properties. It can be used without any preliminary calibration. In combination with dendrometric data, it provides a reliable method for optimizing LTER plots in different types of ecosystems.

1 Introduction

The current environmental context for forest ecosystems is mainly characterized by relevant global changes, in terms of land uses, energetic consumption, climate and atmospheric depositions. These changes and their integration into research programs and forest policies occurred very recently, during the second half of the last century. The need to observe and evaluate the impacts of these major changes on forest ecosystems is highlighted in both the short and long term. These preoccupations led to the establishment of several long-term ecological research (LTER) experimental networks around the world, especially in the forest ecosystems: the Detritus Input and Removal Treatments experiment (Nadelhoffer et al. 2004), the CIFOR network (Nambiar et al. 2004), the Long-Term Soil Productivity network in North America (Powers et al. 2005) or the long-term monitoring networks in Fennoscandia (Smolander et al. 2010). To anticipate the evolution of ecosystem impacts, certain forest management practices (FMP) are often added to understand their effects on forest ecosystem functioning and to test the interaction between FMP and global changes. Furthermore, identifying the responses at an ecosystem scale requires sufficient surface areas, and consequently, an adapted size of the experimental sites (Fayle et al. 2015), especially in the case of soil science studies in forestry domains, in which the experimental sites are mostly designed at a stand scale or higher (e.g., a watershed of several squared km).

For example, in the current forest LTERs, the study areas are approximately 3.5 to 4 ha per site for detecting responses at the ecosystem scale (Nambiar et al. 2004; Hope 2006; Smolander et al. 2010; Hemilisaari et al. 2011). In such areas, experimental plots have variations in soil properties (chemical, biological and physical) and local topography, which have an impact on the vegetation characteristics and dynamics. In forest soils, for example, there is high horizontal spatial variability of chemical and physical soil parameters, even at small scales (Zhou et al. 2010). From the perspective of a long-term monitoring of FMP impacts on ecosystem functioning, it is essential to have ways of characterizing and taking into account pre-existing ecosystem variability, in terms of the soil properties and the vegetation cover heterogeneity. Variability at the site scale must be taken into account before implementing the FMP to ensure that there is no interaction between the FMP and the main ecosystem properties in the establishment of the network. An efficient approach frequently used to determine the soil variability in agronomy

consists of crossing geostatistical data (DEM, etc.) with the results of principal components analyses from a chemical description on the sampling grid (Nykanen et al. 2008; Baracat Sanchez et al. 2014). However, due to the costs of soil analyses, the authors have to focus on very few variables, such as soil moisture, phosphorus, nitrogen, carbon or pollutant contents (Marchant et al. 2009; Lei et al. 2012).

Considering the increasing amount of interdisciplinary research and the number of parameters used to monitor in current LTER, along with the high cost of physical and chemical soil analyses, it seems necessary to develop an efficient tool that will integrate all of these variables. Infrared spectroscopic approaches could be used to record all of the necessary information and to provide an overview of local heterogeneity. Indeed, infrared reflectance spectrometry is a non-destructive physical analysis (Cécillon et al. 2009; Stenberg et al. 2010; Bellon-Maurel and McBratney 2011) that is frequently used to determine the chemical and physical properties of soil, in particular, the soil organic matter properties (Barthès et al. 2008; Ludwig et al. 2008). This method is used to accurately predict carbon and nitrogen concentrations (He et al. 2005; Brunet et al. 2007; Cécillon and Brun 2007), soil texture or cation exchange capacity. Near-infrared spectrometry (NIRS) is used to predict carbon or nitrogen stocks, whereas mid-infrared spectrometry (MIRS) is a suitable method for evaluating organic matter composition (Ludwig et al. 2008; Tazber et al. 2011). In arable soils, infrared spectroscopy was also used to predict the markers of soil biological activities, including enzyme activities, such as cellulase and phenoloxidase (Albrecht et al. 2008), the respiration rate, microbial biomass C and the ergosterol content (Soriano-Disla et al. 2014; Ludwig et al. 2015). Soil nematode communities (Barthès et al. 2011) and earthworm activities can be predicted with a fingerprinting approach using near-infrared spectroscopy.

Consequently, infrared technologies are frequently used to characterize and map soil properties (Cécillon et al. 2009) related to agronomic or pollution issues at the stand to regional scale (for example, AMSR2 satellite imagery in Temini et al. (2010)). The relationship between infrared spectra and the property of interest is calibrated using multivariate statistical approaches on a subsample, and the model is applied to the whole area from the infrared spectra measured on all samples to predict and monitor several soil variables, such as soil organic carbon (Vohland et al. 2011), soil nutrients (Gholizadeh et al. 2013), metal contaminants (Chodak et al. 2007; Horta et al. 2015), or indices of productivity in eucalyptus forests (Bikindou et al. 2012). To our

knowledge, most of these studies integrated a calibration step between the spectra and chemical data (Lamsal 2009; Viscarra-Rossel et al. 2010; Munoz et al. 2011)

The basic idea of this study is that the variability of the spectra reflects the overall heterogeneity of the biological, chemical and physical properties of the soil and thus can be used as such without preliminary calibration with the variables of interest. In a preceding study, Odlare et al. (2005) found that NIR spectral analysis provides a better description of soil spatial variations than the soil reference variables at the field scale, i.e., in a 3.2-ha experiment plot using the results from principal component analyses realized on the spectral data. Here, we propose to extend this result, and our hypothesis is that raw NIR and MIR spectra can be used as an integrated proxy of many soil properties. This method, in combination with dendrometric data, would be a rapid and a cost-effective way to optimize the design of experimental forest sites. We tested this hypothesis on forest LTERs, which exhibit substantial spatial heterogeneity (Smithwick et al. 2000).

2 Materials & Methods

2.1 Experimental sites

This study was carried out at eleven experimental sites that belong to the MOS (Matières Organiques des Sols) network (Akroume 2014). Five beech stands (*Fagus sylvatica* L.) and six oak stands (*Quercus petraea* Matt. Liebl.) were selected in lowland production forests located in the northern half of France. They were chosen to cover an age just before their current annual maximum increment (CAI), i.e., at an age between 30 and 60 years old (Table 1), and to avoid local constraints such as severe slopes or occurrence of hydromorphic soils. When available, the soil types and textures have been described from two pits (1 meter deep) using the World Reference Base for Soil (WRB 2014).

This network is intended for long-term monitoring of the effects of intense biomass exportations on soil fertility, tree growth and health, and soil biodiversity (macro-, meso-, and microfauna). It requires experimental sites that have a study area that is sufficient to determine ecosystem responses.

Forest/code	Age	Species	Coordinates GPS Lambert93		Elevation (m)	Average basal area (m ² /ha)	Dominant height (m)	Stem density (nb/ha)	Geological material	Humus type	Soil texture	Soil type (WRB 2014)
			dirN	dirE								
Ban d'Harol/ BAN	35 yr	beech	6783156.6	938890.7	350	36.3	15.6	3565	Lower Muschelkalk Sandstone	mesomull	loam	Stagnic Dystric Cambisols
Champenoux/ CHAMP	40 yr	oak	6852020.9	945689.4	280	27.0	16.3	1745	Pliensbachian marl	eumull/mesomull	clay-loam	na
Compiègne/ CompCHE	30 yr	oak	6915274.9	695540.9	180	19.7	13	12154	Middle Lutetian limestone	mesomull	sandy-loam	Eutric Cambisols
Compiègne/ CompHET	30 yr	beech	6914427.8	695219.1	185	13.5	20	446	Middle Lutetian limestone	mesomull	sandy-loam	Stagnic Luvisols
Darney/ DAR	35 yr	beech	6779652.2	936520.6	500	23.8	18.3	2898	Lower Muschelkalk Sandstone	mesomull/oligomull	sandy clay loam	Dystric Cambisols
Fontainebleau/ FONT	40 yr	oak	6810531.1	682549.1	135	23.5	12	1878	Quaternary silt	moder	sand	Entic podzol
Gaillefontaine/ GAILL	40 yr	beech	6952055.8	602895.7	290	25.3	16.5	849	Upper Jurassic limestone	eumull/mesomull	Silty-loam	Eutric Cambisols
Prieurés Grosbois/ GRO	40 yr	oak	6599998.1	698904.5	319	20.9	16.4	1528	Autunian	dysmull	sandy-loam	na
Reichshoffen/ REICH	40 yr	oak	6882801.78	1041673.4	270	21.3	16.5	1473	Lower Muschelkalk marl	mesomull/dysmull	silt	na
Tronçais/TRON	50 yr	oak	6614238.3	678776.2	270	25.6	17.16	1473	Trias sandstone	mesomull/dysmull	sandy-loam	na
Verrière du Grosbois/ VERR	55 yr	beech	6683070.9	948588.4	585	24.6	21.6	458	Argovian Chert clay	mesomull/oligomull	silty clay loam	Dystric Luvic Cambisols

Table 1 Description of the 11 experimental sites established in deciduous forests. All experimental sites were sampled during the spring of 2013. (na= not available)

The total area of a single experimental site is approximately 2-3 ha. We defined 12 subplots of 40 m x 40 m within each site. Four treatments corresponding to four levels of biomass exportations will be studied at each experimental site. The modalities were described in Akroume, 2014 as follows: (i) a control (stem only harvesting); (ii) logging with residue removal; (iii) logging with residue and forest floor removal; and (iv) logging with residue removal and wood ash fertilization. The four treatments were repeated three times per experimental site (Fig. 1). Their layout on the site was randomly determined before the *in situ* implementation of the treatments.

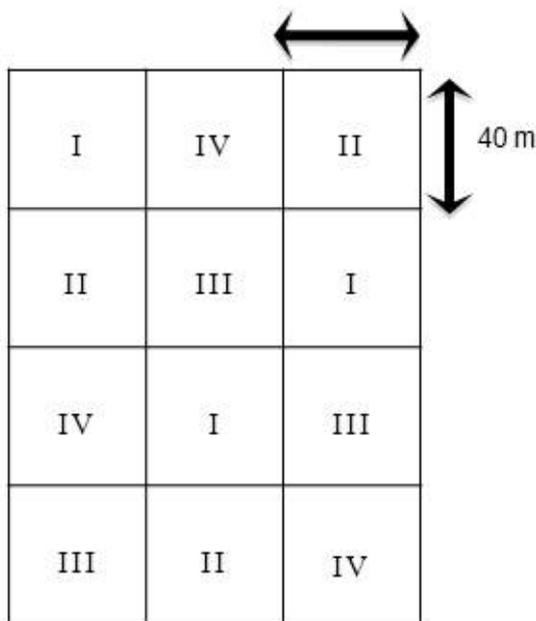


Fig. 1 Example of a theoretical treatment layout at an experimental site. Different treatments are coded from 1 to 4.

2.2 Soil sampling and dendrometric measures

At each site, we sampled the leaf litter and soil in a 50 x 50 cm square every 20 m before the onset of the *in situ* experiments. After the forest floor was collected, the mineral soil was sampled at 3 depths: 0-5 cm, 5-10 cm and 10-20 cm. In each soil layer, three cores were collected and pooled to obtain a single composite sample per soil layer and point. According to the site configuration, this 20-meter sampling grid provided approximately 70 points per site, with a total of 280 samples per site for the 4 layers (leaf litter and the three soil depths). The sample point locations were recorded in the field using a Trimble Geo 5T (Trimble Navigation Ltd., Sunnyvale, CA, USA) terminal (accuracy of 0.5-1 meter in forests) and

plotted using the free GIS software Qgis 1.8.0 (<http://www.qgis.org/fr/site/>). We measured the circumference at breast height and the dominant height (H_0 , height of the 3 largest trees) every 40 m to describe the forest stands. The trees were measured inside a 6-meter diameter circle, except for the trees with a circumference above 20 cm, which were measured inside a 10-meter diameter circle. These measurements provided a dendrometric description of the stands based on the tree density (number of stems per ha), the index of fertility (H_0), the basal area (m^2 per ha) and the species composition.

2.3 Mid-near infrared spectroscopic analysis

The soil and forest floor litter samples were sieved through a 4-mm mesh and dried at 30°C for 5 days before grinding. These ground samples were dried again at 30°C for 24 hours before infrared analysis. They were subjected to infrared (9997 to 2200 cm^{-1}) and mid-infrared (5000 to 550 cm^{-1}) scanning using a HTS-XT Bruker spectrometer (Vertex 70, NIR-MIR-MCT, Bruker Corporation, Billerica, MA); the two sensors overlapped in the 2200-5000 cm^{-1} region. We used the full range provided by each sensor, and the infrared scanner recorded the absorbance spectra for each sample.

2.4 Chemical analyses

We pooled the soil and litter samples per layer to obtain a single bulk sample for each 40 m x 40 m plot delimited in the field. This resulted in 12 bulked samples for each site (3 repetitions by treatment) and a total of 512 bulked samples that corresponded to the 11 experimental sites x 4 treatments x 3 repetitions per treatment (except for the oak Compiègne site with only 2 repetitions) x 4 studied layers (litter + 3 soil depths). The carbon and nitrogen concentrations of the 512 bulked samples were measured using a Thermoquest elemental analyzer (NCS2500, EA/NA 1110).

A second level of pooling was performed on the soil layers. The three repetitions per treatment were combined, resulting in 132 samples, where the depths represented the repetitions for each treatment (11 experimental sites x 4 treatments x 3 soil layers). Figure 2 summarizes the different steps of sample pooling.

Complementary analyses to C and N were conducted on these 132 samples. The pooling permitted a reduction in the number of samples and resulted in homogenized combined

samples by block. The chemical analyses were carried out at the INRA laboratory of Arras. Phosphorus was measured using the Duchaufour and Bonneau method (1959), and exchangeable elements (Ca, K, Mg, Na, Mn, Al, Fe) were extracted using cobaltihexammine chloride (Orsini and Rémy 1976). Furthermore, the pH (H₂O and KCl) was measured, and the CEC was estimated at soil pH after extraction with cobaltihexammine chloride. The soil chemical characteristics were used to validate the random drawings and are given in table S1.

2.5 Statistical analyses

For each of the eleven sites, the spectral data were saved as a matrix. Data analyses were conducted on the first derivate after standard normal transformation to accentuate spectral patterns (Reeves et al. 2002). Statistical analyses were carried out using SAS 9.2 software (SAS Inc., Cary, NC, USA).

The spectral data were then subjected to a principal components analysis (PCA) to determine the intra-site variability of the soils. For each of the eleven sites, the data set was composed of approximately 70 individuals (soil samples) and between 2566 (MIR) and 4044 (IR) variables. In all cases, the two first axes of the PCA were sufficient to explain more than 90% of the variance. Then, the PCA coordinates of the main components, the dendrometric characteristics and the treatment locations were synthesized to a single data set. The interactions between the treatments and variables were tested using ANOVA (proc GLM), with a significance threshold of 5%. A random drawing of the treatment layout was repeated until the analysis of variance did not reveal any significant effects between the treatments and the measured infrared (whatever the depth) or dendrometric data. The interactions between the treatments and spectral data were checked for all layers (soil and litter).

2.6 Validation of the method

The treatment layout that was selected by the random drawing was then cross-checked with the chemical characteristics of the soil samples. A validation of the method was performed on the first level of pooling (set of 512 samples) for the carbon and nitrogen concentrations and on the second level of pooling for the other chemical variables (set of 132 samples) (Fig. 2). For the first pooling, the interactions between the treatments and chemical properties were

identified using nested proc GLM with a significance threshold of 5%. The nested proc GLM permitted consideration of each soil depth separately.

In the second pooling data set, as the depths were used as replicates, the correlations existing between the different depths were taken into account in the “repeated measures anova” option in the SAS GLM procedure, taking sites as repetitions. To confirm the results, we also used mixed linear models with PROC MIXED in SAS. For each chemical element, the treatment effects were tested on each soil depth separately (fixed effects), and the eleven sites were taken as random effects parameters.

For both pooling datasets, our hypothesis was validated if no treatment effect was detected on the measured soil chemical properties and the dendrometric data when the treatment layouts were determined using only the infrared spectra and stand characteristics.

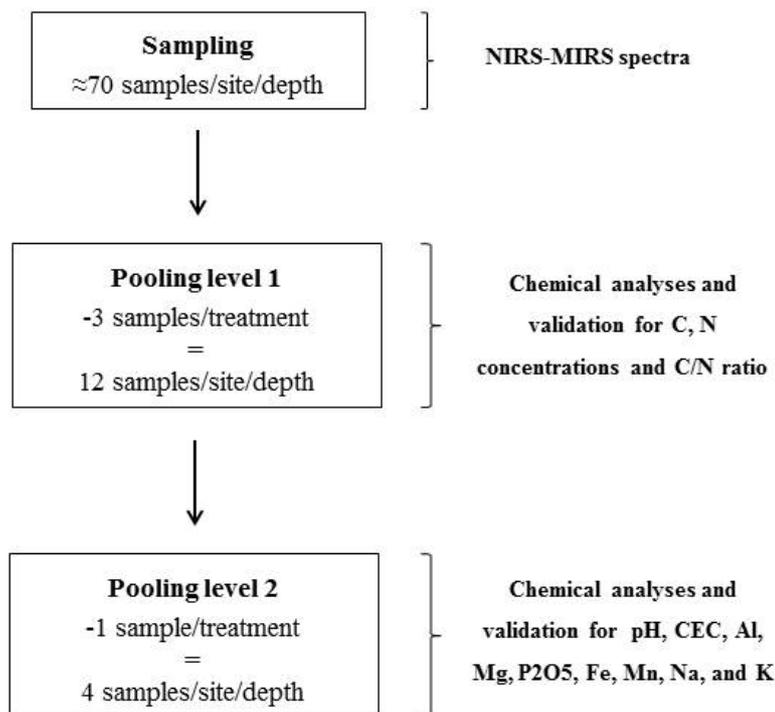


Fig. 2 Schematic plan of the different pooling steps used for the infrared spectroscopy and chemical analyses

3 Results

3.1 NIRS/MIRS spectra and principal component analyses

For all sites, the two first components of the PCA explained more than 95% of the total variance of infrared spectral data. The coordinates of the first two components were mapped on the sampling grid, which revealed local variability at the plot scale for the leaf litter and the three soil depths that were sampled. According to the experimental site, some spatial heterogeneity, soil homogeneity or gradients of soil characteristics were highlighted (Fig. 3a). This mapping provides an account of the existing variability at the scale of the experimental site. It does not explain which soil parameters are involved, but it reveals local differences between sampling points.

3.2 Treatment layout

The four treatments were definitively arranged following the random drawing, which overcame the local heterogeneity of the soil and forest stands or existing gradients revealed by infrared reflectance spectroscopy (Fig. 3b). On average, 4 random drawings were necessary to obtain a suitable treatment arrangement (i.e., with no effect on dendrometric variables and spectra). When the ANOVA procedure detected treatment effects, they could have been due to soil variations, dendrometric characteristics or a combination of both types of parameters.

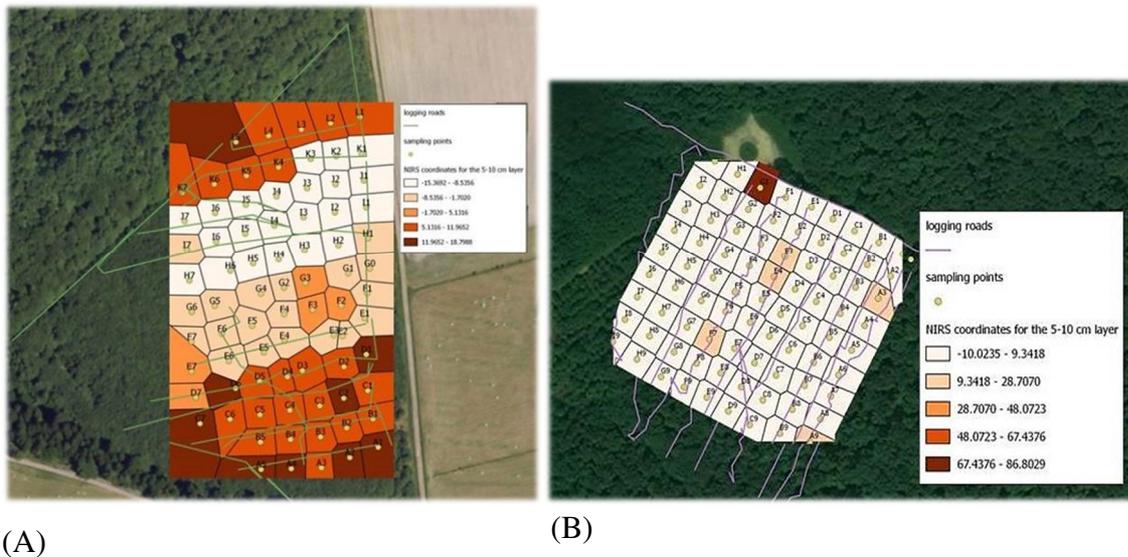


Fig. 3a- Map of the axis 1 coordinates of the PCA for the infrared reflectance spectral data. Darney experimental sites exhibit spatial gradient variability (A) however the Compiègne beech site reveals local homogeneity (B) in the 5-10-cm layer.

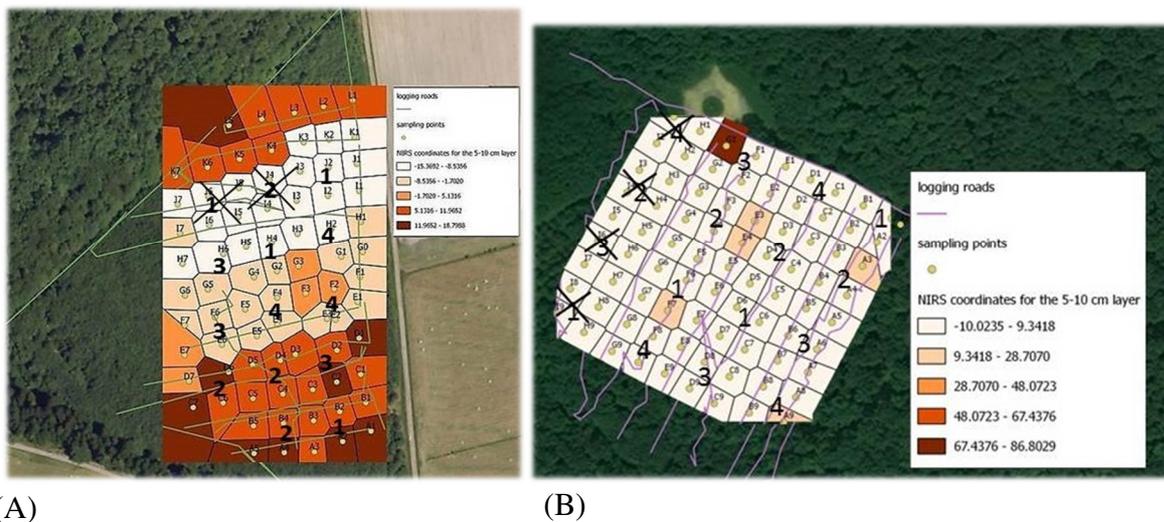


Fig. 3b- Treatment layout at the Darney experimental site (A) and the Compiègne beech experimental site (B) overlapped with the map of the axis 1 coordinates of the PCA for the infrared reflectance spectral data. The crossed areas correspond to additional plots, which were not retained in the definitive experimental design.

3.3 Validation of the repeated random drawing

The nested analysis of variance exhibited no significant effect between the treatment layout and the carbon ($p = 0.956$) and nitrogen concentrations ($p = 0.986$). The ANOVA result was also non-significant for the C/N ratio ($p = 0.059$). This result confirmed that there was no link between the local variations in the carbon and nitrogen concentrations or the C/N ratios and the treatment design at the initial stage.

For all the other variables, the GLM procedure with “repeated measure anova” confirmed that the three soil depths were strongly correlated. The partial correlation coefficients were always highly significant and varied between 0.70 and 0.99 ($p < 10^{-4}$). Furthermore, there was no effect between the treatment layout and the different variables; for all elements, the GLM procedure exhibited no significant effect ($p > 0.90$).

The additional validation by a mixed linear model (PROC MIXED), considering the treatments and soil depths as fixed effects and the experimental sites as random effects, permitted us to test each soil layer independently. It confirmed this result and validated the absence of any initial interaction between the treatments and the soil chemical properties for each soil layer ($p > 0.05$).

Discussion

This work aimed to develop a methodology for designing experimental sites in a long-term monitoring network where the soil organic matter is manipulated, such as in our context of increased forest harvesting. Then, for both the soil chemical measurements and the NIRS/MIRS spectral analyses, we focused on the topsoil (litter and the first 20 cm), which is supposed to be more affected by organic matter removal than the deeper layers (Sayers, 2006; Thiffault et al. 2011). Indeed, some studies in *Eucalyptus* plantations have not shown any effect of litter removal after two years on the carbon and nitrogen concentrations in mineral soil located at a depth below 15 cm (Versini et al. 2014). Furthermore, nitrogen from leaf litter degradation is mainly incorporated between depths of 15 and 30 cm (D'Annunzio et al. 2008). In temperate broadleaf forests, similar monitoring shows that most of the nitrogen is incorporated in the top 5 cm of the soil after 2 years (Swantson and Myrold 1997; Zeller et al. 2001). This finding is why we deliberately chose not to consider the spatial variability in deeper soil layers, despite their relevance for tree growth. For all of the soil chemical properties studied here, the random drawing based on infrared data was validated because

there was no significant effect of treatment on the soil characteristics. It is interesting to note that the random drawing was validated even for the C:N ratio and for some elements, such as Fe, Mn, Na or K, whose concentrations are difficult to predict accurately by near- or mid-infrared spectroscopy (Bikindou et al. 2012; Kuang et al. 2012; Soriano-Disla et al. 2014). These results confirm that near- and mid-near infrared spectra can be used as such in the design of experimental sites as a proxy of a large set of chemical properties of forest soils. This result is clearly new and generalizes the preceding study proposed by Odlare et al. (2005). In this study, we chose to focus only on chemical properties, even if we acknowledge that a relevant part of soil heterogeneity is driven by physical parameters. Complementary studies would be required to validate this method with physical characteristics, such as soil texture or structure.

For some experimental sites, in particular those with strong local variability of soil and stand characteristics, the mapping of the PCA coordinates on the spectral results revealed that the heterogeneity did not follow the same pattern across the four sampled layers. That is why it is essential to check the treatment effects using ANOVA on several depths and not only the upper layers. This point is important, not only for soil chemical properties but also for the soil microbial analysis because soil fungi are also differentially distributed in the vertical soil profile (Dickie et al. 2002; Coince et al. 2013). Both soil variability and dendrometric characteristics have to be considered before implementing the treatments *in situ*, particularly when dendrometric data are very homogenous. In these cases, infrared data are the only parameters that permit the detection of local soil variations, which could interact with the treatment layout. Finally, it is essential to notice that the infrared data were validated using chemical analysis but not using biological activity factors, whereas the local variability observed using infrared spectroscopy could also be linked to the heterogeneous distribution of soil organisms (Ludwig et al. 2015). Indeed, Terhoeven-Urselmans et al. (2008) reported a high correlation between NIRS/MIRS and microbial properties, as ergosterol and microbial carbon measurements. Moreover, Morris (1999) found that considerable spatial variability in fungal and bacterial biomass exists at the 1–10 cm scale. This author suggested that this variability could be adequately managed by sampling in a pattern, which takes into account components of this important biological variation.

Both near and mid infrared were taken into account for the eleven experimental sites. Mid infrared spectra cover a larger range of frequencies and are more efficient to reflect the chemical properties of soil organic matter (Ludwig et al. 2008). They are preferentially used

to predict organic components and exchangeable elements in litter and soil (Patzold et al. 2008), especially soil carbon, nitrate, metals and microelements (Kuang et al. 2012), whereas near-infrared analyses associated with MIR reveal the physical properties of soil (Soriano-Disla et al. 2014). Near infrared spectra are a good predictor of clay content, exchangeable K (Viscarra Rossel et al. 2006) and moisture content (Kuang et al. 2012). Evidence suggests that MIR spectroscopy provides an integrative overview of soil properties and will reveal more accurate local variations of existing gradients. Nevertheless, near infrared is still useful for identifying some variations and for crossing them with mid-infrared data for confirmation. Using both NIRS and MIRS analyses produces the most complete characterization of soil properties. Finally, Viscarra Rossel et al. (2006) emphasized the superior efficiency of MIR spectroscopy in the laboratory, whereas NIRS provides better results for *in situ* analyses, partly because of the sample preparation required for mid-infrared spectroscopy (Kuang et al. 2012).

5 Outlook and conclusions

NIRS-MIRS prospection is an accurate method for reflecting the local variability of forest soil for the main chemical variables. It allows for horizontal spatial heterogeneity to be overcome and limits the number of chemical analyses in the initial characterization of experimental sites.

Finally, NIR-MIR spectroscopy appears to be an efficient tool to describe the spatial heterogeneity of forest soil at the scale of a forest stand. Crossed with vegetation characteristics, it permits both belowground and dendrometric variability to be taken into account in the implementation of optimal experimental designs. It provides a reliable method that is applicable for the optimization of LTER plots in different types of ecosystems.

References

- Akroume E (2014) Impacts d'un retrait intense des rémanents sur la fertilité des sols forestiers et sur leur biodiversité. *Revue Forestière Française* LXVI – 4, 573-578.
- Albrecht R, Joffre R, Petit JL, Terrom G, Périssois C (2008) Calibration of chemical and biological changes in cocomposting of biowastes using near-infrared spectroscopy. *Environmental science & technology* 43, 804–811.

- Barthès BG, Brunet D, Hien E, Enjalric F, Conche S, Freschet G, D'Annunzio R, Toucet-Louri J (2008) Determining the distributions of soil carbon and nitrogen in particle size fractions using near infrared reflectance spectrum of bulk soil samples. *Soil Biol. Biochem.* 40, 1533–1537
- Barthès BG, Brunet D, Rabary B, Ba O, Villenave C, (2011) Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) could be used for characterization of soil nematode community. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1649–1659. doi:10.1016/j.soilbio.2011.03.023
- Bellon-Maurel V, McBratney A (2011) Near-infrared (NIR) and mid-infrared (MIR) spectroscopic techniques for assessing the amount of carbon stock in soils – Critical review and research perspectives. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1398–1410. doi:10.1016/j.soilbio.2011.02.019
- Bikindou FDA, Gomat HY, Deleporte P, Bouillet JP, Moukini R, Mbedi Y, Ngouaka E, Brunet D, Sita S, Diazenza JB, Vouidibio J, Mareschal L, Ranger J, Saint-André L (2012) Are NIR spectra useful for predicting site indices in sandy soils under Eucalyptus stands in Republic of Congo? *Forest Ecology and Management* 266, 126–137. doi:10.1016/j.foreco.2011.11.012
- Brunet D, Barthès BG, Chotte JL, Feller C (2007) Determination of carbon and nitrogen contents in Alfisols, Oxisols and Ultisols from Africa and Brazil using NIRS analysis: Effects of sample grinding and set heterogeneity. *Geoderma* 139, 106–117. doi:10.1016/j.geoderma.2007.01.007
- Cécillon L, Brun JJ (2007) Near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS): a practical tool for the assessment of soil carbon and nitrogen budget. *COST Action 639: Greenhouse-gas Budget of Soils Under Changing Climate and Land Use (BurnOut)*. 103-110.
- Cécillon,L, Barthès BG, Gomez C, Ertlen D, Genot V, Hedde M, Stevens A, Brun JJ (2009) Assessment and monitoring of soil quality using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *European Journal of Soil Science* 60, 770–784. doi:10.1111/j.1365-2389.2009.01178.x
- Chodak M, Niklińska M, BeeseF, (2007) Near-infrared spectroscopy for analysis of chemical and microbiological properties of forest soil organic horizons in a heavy-metal-polluted area. *Biology and Fertility of Soils* 44, 171–180. doi:10.1007/s00374-007-0192-z
- Coince A, Caël O, Bach C, Lengellé J, Cruaud C, Gavory F, Morin E, Murat C, Marçais B, Buée M (2013) Below-ground fine-scale distribution and soil versus fine root detection of fungal and soil oomycete communities in a French beech forest. *Fungal Ecology* 6, 223–235. doi:10.1016/j.funeco.2013.01.002
- D'Annunzio R, Zeller B, Nicolas M, Dhôte JF, Saint-André L (2008) Decomposition of European beech (*Fagus sylvatica*) litter: Combining quality theory and 15N labelling experiments. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 322–333. doi:10.1016/j.soilbio.2007.08.011
- Dickie IA, Xu B, Koide RT (2002) Vertical niche differentiation of ectomycorrhizal hyphae in soil as shown by T-RFLP analysis. *New Phytologist* 156, 527–535.
- Duchaufour P, Bonneau M (1959) Une nouvelle méthode de dosage du phosphore assimilable dans les sols forestiers. *Bull. AFES* 4, 193–198

Fayle TM, Turner EC, Basset Y, Ewers RM, Reynolds G, Novotny V, (2015) Whole-ecosystem experimental manipulations of tropical forests. *Trends in Ecology & Evolution* 30, 334–346. doi:10.1016/j.tree.2015.03.010

Gholizadeh A, Borůvka L, Saberioon M, Vašát R, (2013) Visible, Near-Infrared, and Mid-Infrared Spectroscopy Applications for Soil Assessment with Emphasis on Soil Organic Matter Content and Quality: State-of-the-Art and Key Issues. *Applied Spectroscopy* 67, 1349–1362. doi:10.1366/13-07288

He Y, Song HY, Pereira AG, Gómez AH (2005) Measurement and analysis of soil nitrogen and organic matter content using near-infrared spectroscopy techniques. *J Zhejiang Univ SCI* 6B(11), 1081-1086.

Helmisaari HS, Hanssen KH, Jacobson S, Kukkola M, Luro J, Saarsalmi A, Tamminen P, Tveite B (2011) Logging residue removal after thinning in Nordic boreal forests: Long-term impact on tree growth. *Forest Ecology and Management* 261, 1919–1927. doi:10.1016/j.foreco.2011.02.015

Hope GD (2006) Establishment of long-term soil productivity studies on acidic soils in the interior douglas-fir zone. LTSP Research Note. British Columbia Ministry of Forests and Range: Victoria BC, Canada, p 4.

Horta A, Malone B, Stockmann U, Minasny B, Bishop TFA, McBratney AB, Pallasser R, Pozza L, (2015) Potential of integrated field spectroscopy and spatial analysis for enhanced assessment of soil contamination: A prospective review. *Geoderma* 241-242, 180–209. doi:10.1016/j.geoderma.2014.11.024

Kuang B, Mahmood HS, Quraishi M, Hoogmoed WB, Mouazen AM, van Henten EJ. 2012. Chapter four - Sensing Soil Properties in the Laboratory, In Situ, and On-Line: A Review, in: Donald L. Sparks (Ed.), *Advances in Agronomy*. Academic Press, pp. 155–223

Lei X, Li F, Zhou S, Li Y, Chen D, Liu H, Pan Y, Shen X, (2012) Spatial Variability and Lateral Location of Soil Moisture Monitoring Points on Cotton Mulched Drip Irrigation Field, in: Li, D., Chen, Y. (Eds.), *Computer and Computing Technologies in Agriculture V*, IFIP Advances in Information and Communication Technology. Springer Berlin Heidelberg, pp. 247–257.

Ludwig B, Nitschke R, Terhoeven-Urselmans T, Michel K, Flessa H (2008) Use of mid-infrared spectroscopy in the diffuse-reflectance mode for the prediction of the composition of organic matter in soil and litter. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 171, 384–391. doi:10.1002/jpln.200700022

Ludwig B, Sawallisch A, Heinze S, Joergensen RG, Vohland M (2015) Usefulness of middle infrared spectroscopy for an estimation of chemical and biological soil properties—Underlying principles and comparison of different software packages. *Soil Biology and Biochemistry*, 86, 116-125.

Marchant BP, Newman S, Corstanje R, Reddy KR, Osborne TZ, Lark RM, (2009) Spatial monitoring of a non-stationary soil property: phosphorus in a Florida water conservation area. *European Journal of Soil Science* 60, 757–769. doi:10.1111/j.1365-2389.2009.01158.x

Muñoz JD, Kravchenko A, (2011) Soil carbon mapping using on-the-go near infrared spectroscopy, topography and aerial photographs. *Geoderma* 166, 102–110.

doi:10.1016/j.geoderma.2011.07.017 Morris SJ (1999) Spatial distribution of fungal and bacterial biomass in southern Ohio hardwood forest soils: fine scale variability and microscale patterns. *Soil Biology and Biochemistry*, 31(10), 1375-1386.

Nadelhoffer KJ, Boone RD, Bowden RD, Canary JD, Kaye J, Micks P. et al. (2004) The DIRT experiment: Litter and root influences on forest soil organic matter stocks and function. In: D. Foster and J. Aber, editors, *Forests in time: The environmental consequences of 1000 years of change in New England*. Yale Univ. Press, New Haven, CT. p. 300–315

Nykänen A, Jauhiainen L, Kemppainen J, Lindström K, (2008) Field-scale spatial variation in yields and nitrogen fixation of clover-grass leys and in soil nutrients. *Agricultural and Food Science* 17, 376–393. doi:10.2137/145960608787235568

Nambiar EK., Ranger J, Tiarks A, Toma T (Eds.) (2004) *Site management and productivity in tropical plantation forests: proceedings of workshops in Congo July 2001 and China February 2003*. Center for International Forestry Research, Bogor, Indonesia.

Odlare M, Svensson K, Pell M (2005) Near infrared reflectance spectroscopy for assessment of spatial soil variation in an agricultural field. *Geoderma* 126, 193–202. doi:10.1016/j.geoderma.2004.09.013

Orsini L, Rémy JC (1976) Utilisation du chlorure de Cobaltihexammine pour la détermination simultanée de la capacité d'échange et des bases échangeables des sols. *Sci. Sol* 4, 269–275

Patzold S, Mertens FM, Bornemann L, Koleczek B, Franke J, Feilhauer H, Welp G (2008) Soil heterogeneity at the field scale: a challenge for precision crop protection. *Precision Agriculture* 9, 367–390. doi:10.1007/s11119-008-9077-x

Powers R, Scott D, Sanchez F, Voldseth R, Page-Dumroese D, Elioff J, Stone D (2005) The North American long-term soil productivity experiment: Findings from the first decade of research. *For. Ecol. Manage.* 220, 31–50. doi:10.1016/j.foreco.2005.08.003

Reeves J, McCarty G, Mimmo T (2002) The potential of diffuse reflectance spectroscopy for the determination of carbon inventories in soils. *Environmental pollution* 116, S277–S284

Sanchez MGB, Marques J, Siqueira DS, Camargo LA, Pereira GT, (2013) Delineation of specific management areas for coffee cultivation based on the soil–relief relationship and numerical classification. *Precision Agriculture* 14, 201–214. doi:10.1007/s11119-012-9288-z

Smithwick EA, Mack MC, Turner MG, Chapin III FS, Zhu J, Balsler TC (2005) Spatial heterogeneity and soil nitrogen dynamics in a burned black spruce forest stand: distinct controls at different scales. *Biogeochemistry*, 76(3), 517-537.

Smolander A, Kitunen V, Tamminen P, Kukkola M (2010) Removal of logging residue in Norway spruce thinning stands: Long-term changes in organic layer properties. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 1222–1228. doi: 10.1016/j.soilbio.2010.04.015

Soriano-Disla JM, Janik LJ, Viscarra Rossel RA, Macdonald LM, McLaughlin MJ, (2014) The Performance of Visible, Near-, and Mid-Infrared Reflectance Spectroscopy for Prediction of Soil Physical, Chemical, and Biological Properties. *Applied Spectroscopy Reviews* 49, 139–186. doi:10.1080/05704928.2013.811081

Stenberg B, Viscarra Rossel RA, Mouazen AM, Wetterlind J (2010) Visible and Near Infrared Spectroscopy in Soil Science, in: *Advances in Agronomy*. Elsevier, pp. 163–215.

Swanston CW, Myrold DD (1997) Incorporation of nitrogen from decomposing red alder leaves into plants and soil of a recent clearcut in Oregon. *Canadian journal of forest research* 27, 1496–1502.

Tatzber M, Mutsch F, Mentler A, Leitgeb E, Englisch M, Zehetner F, Djukic I, Gerzabek MH (2011) Mid-infrared spectroscopy for topsoil layer identification according to litter type and decompositional stage demonstrated on a large sample set of Austrian forest soils. *Geoderma* 166, 162–170. doi:10.1016/j.geoderma.2011.07.025

Temimi M, Leconte R, Chaouch N, Sukumal P, Khanbilvardi R, Brissette F, (2010) A combination of remote sensing data and topographic attributes for the spatial and temporal monitoring of soil wetness. *Journal of Hydrology* 388, 28–40. doi:10.1016/j.jhydrol.2010.04.021

Terhoeven-Urselmans T, Schmidt H, Georg Joergensen R, Ludwig B (2008) Usefulness of near-infrared spectroscopy to determine biological and chemical soil properties: Importance of sample pre-treatment. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 1178–1188. doi:10.1016/j.soilbio.2007.12.011

Thiffault E, Hannam KD, Paré D, Titus BD, Hazlett PW, Maynard DG, Brais S (2011) Effects of forest biomass harvesting on soil productivity in boreal and temperate forests — A review. *Environmental Reviews* 19, 278–309. doi:10.1139/a11-009

Versini A, Mareschal L, Matsoumbou T, Zeller B, Ranger J, Laclau JP (2014) Effects of litter manipulation in a tropical Eucalyptus plantation on leaching of mineral nutrients, dissolved organic nitrogen and dissolved organic carbon. *Geoderma* 232-234, 426–436. doi: 10.1016/j.geoderma.2014.05.018

Viscarra Rossel RA, Walvoort DJJ, McBratney AB, Janik LJ, Skjemstad JO (2006). Visible, near infrared, mid infrared or combined diffuse reflectance spectroscopy for simultaneous assessment of various soil properties. *Geoderma* 131, 59–75. doi:10.1016/j.geoderma.2005.03.007

Viscarra Rossel RA, Rizzo R, Demattê JAM, Behrens T (2010) Spatial Modeling of a Soil Fertility Index using Visible–Near-Infrared Spectra and Terrain Attributes. *Soil Science Society of America Journal* 74, 1293. doi:10.2136/sssaj2009.0130

Vohland M, Besold J, Hill J, Fründ HC (2011) Comparing different multivariate calibration methods for the determination of soil organic carbon pools with visible to near infrared spectroscopy. *Geoderma* 166, 198–205. doi:10.1016/j.geoderma.2011.08.001

Vohland M, Emmerling C, (2011) Determination of total soil organic C and hot water-extractable C from VIS-NIR soil reflectance with partial least squares regression and spectral feature selection techniques. *European Journal of Soil Science* 62, 598–606. doi:10.1111/j.1365-2389.2011.01369.x

Zeller B, Colin-Belgrand M, Dambrine E, Martin F (2001) Fate of nitrogen released from ¹⁵N-labeled litter in European beech forests. *Tree Physiology* 21, 153–162.

Zhou Y, Wand S, Lu H, Xie L, Xiao D (2010) Forest soil heterogeneity and soil sampling protocols on limestone outcrops: example from China. *ACTA CARSOLOGICA* 1, 39.

mean (sd)														
site	species	treatment	pH_water	CEC (cmol+/kg)	Al (g/100 g)	Ca (g/100 g)	Fe (g/100 g)	K (g/100 g)	Mg (g/100 g)	Mn (mg/kg)	Na (g/100 g)	P2O5 (g/100 g)	N (g/100 g)	C (g/100 g)
ban	beech	4	4.68 (0.03)	4.35 (0.25)	4.94 (0.24)	0.05 (0.01)	2.22 (0.07)	2.42 (0.01)	0.29 (0.01)	652.25 (103.36)	0.23 (0)	0.07 (0.01)	0.14 (0.03)	2.49 (0.51)
ban	beech	1	4.64 (0.03)	4.47 (0.49)	5 (0.19)	0.05 (0.01)	2.23 (0.06)	2.43 (0.03)	0.29 (0)	565.25 (62.13)	0.24 (0)	0.07 (0)	0.15 (0.03)	2.61 (0.54)
ban	beech	3	4.69 (0.02)	3.92 (0.58)	4.97 (0.24)	0.04 (0.01)	2.21 (0.05)	2.51 (0.05)	0.29 (0.01)	733.75 (89.85)	0.2 (0)	0.07 (0)	0.16 (0.03)	2.82 (0.59)
ban	beech	2	4.69 (0.01)	4.42 (0.65)	5.21 (0.45)	0.05 (0.02)	2.42 (0.16)	2.53 (0.07)	0.32 (0.01)	782 (147.47)	0.23 (0)	0.08 (0)	0.17 (0.04)	2.97 (0.57)
comphet	beech	2	5.07 (0.03)	3.36 (0.84)	1.75 (0.07)	0.15 (0.03)	0.85 (0.02)	0.73 (0.02)	0.1 (0)	280.25 (28.69)	0.29 (0.01)	0.04 (0.01)	0.11 (0.05)	1.64 (0.67)
comphet	beech	1	4.73 (0.05)	2.5 (0.6)	1.75 (0.07)	0.13 (0.03)	0.85 (0.01)	0.74 (0.02)	0.1 (0)	238.75 (44.86)	0.3 (0.01)	0.04 (0.01)	0.11 (0.05)	1.74 (0.8)
comphet	beech	3	4.79 (0.09)	2.75 (0.53)	1.7 (0.09)	0.13 (0.02)	0.84 (0.03)	0.72 (0.03)	0.09 (0)	255 (45.01)	0.28 (0.01)	0.04 (0.01)	0.12 (0.06)	1.8 (0.9)
comphet	beech	4	4.89 (0.09)	3.2 (0.17)	1.88 (0.11)	0.16 (0.02)	0.97 (0.04)	0.75 (0.03)	0.11 (0)	292.75 (44.84)	0.29 (0.01)	0.05 (0.01)	0.13 (0.06)	1.83 (0.78)
dar	beech	3	4.55 (0.01)	4.12 (0.38)	4.72 (0.19)	0.05 (0.02)	1.72 (0.07)	2.54 (0.03)	0.24 (0.01)	303.25 (55.99)	0.2 (0)	0.07 (0.01)	0.14 (0.04)	2.46 (0.34)
dar	beech	2	4.54 (0.03)	4.38 (0.44)	4.73 (0.22)	0.05 (0.01)	1.76 (0.01)	2.52 (0.08)	0.25 (0)	288 (40.38)	0.2 (0)	0.07 (0.01)	0.14 (0.04)	2.69 (0.36)
dar	beech	1	4.51 (0.03)	4.51 (0.37)	7.05 (2.89)	0.06 (0.01)	2.6 (1.11)	3.8 (1.48)	0.37 (0.14)	398 (101.59)	0.27 (0.11)	0.1 (0.03)	0.15 (0.05)	2.83 (0.57)
dar	beech	4	4.54 (0.03)	4.38 (0.35)	4.88 (0.41)	0.13 (0.2)	1.7 (0.11)	2.75 (0.03)	0.26 (0.01)	337.5 (87.43)	0.17 (0.01)	0.07 (0.01)	0.15 (0.05)	2.88 (0.66)
gail	beech	3	4.37 (0.18)	4.69 (1.01)	3.99 (0.19)	0.16 (0.02)	1.96 (0.08)	1.39 (0.04)	0.24 (0.01)	695.5 (53.68)	0.56 (0.02)	0.1 (0.02)	0.21 (0.1)	2.93 (1.66)
gail	beech	2	4.39 (0.18)	4.75 (1.19)	4.01 (0.09)	0.17 (0.02)	1.96 (0.04)	1.41 (0.01)	0.25 (0.01)	639.5 (52.62)	0.6 (0.01)	0.09 (0.03)	0.21 (0.1)	2.96 (1.45)
gail	beech	4	4.35 (0.2)	4.99 (1.28)	3.98 (0.22)	0.17 (0.02)	1.91 (0.1)	1.41 (0.05)	0.25 (0.02)	732 (144)	0.6 (0.04)	0.1 (0.02)	0.23 (0.12)	3.21 (1.94)

gail	beech	1	4.38 (0.21)	4.56 (1.22)	3.96 (0.21)	0.17 (0.03)	1.91 (0.09)	1.41 (0.06)	0.24 (0.02)	701.25 (124.71)	0.58 (0.03)	0.11 (0.03)	0.25 (0.12)	3.37 (1.88)
verr	beech	2	4.41 (0.1)	4.4 (0.35)	3.46 (0.24)	0.09 (0.01)	2.42 (0.14)	0.97 (0.03)	0.23 (0.01)	734.75 (96.5)	0.21 (0.01)	0.09 (0.01)	0.19 (0.08)	3.56 (1.41)
verr	beech	4	4.47 (0.1)	5.23 (0.66)	3.76 (0.23)	0.08 (0.02)	2.9 (0.13)	0.9 (0.04)	0.25 (0.01)	950.75 (157.72)	0.23 (0.01)	0.1 (0.01)	0.21 (0.07)	3.68 (1.33)
verr	beech	1	4.49 (0.07)	4.94 (0.75)	3.88 (0.14)	0.12 (0.04)	2.7 (0.18)	1.01 (0.02)	0.27 (0.01)	936.5 (225.97)	0.25 (0.01)	0.1 (0.02)	0.21 (0.09)	3.69 (1.58)
verr	beech	3	4.55 (0.13)	4.91 (1.01)	3.69 (0.2)	0.09 (0.02)	2.72 (0.14)	0.96 (0.03)	0.25 (0.01)	1067.25 (127.74)	0.23 (0.01)	0.1 (0.02)	0.21 (0.08)	4.11 (1.51)
champ	oak	4	4.96 (0.06)	9.61 (0.92)	7.45 (0.49)	0.09 (0.04)	4.26 (0.29)	1.69 (0.03)	0.53 (0.02)	1467.5 (215.02)	0.52 (0.02)	0.11 (0.02)	0.21 (0.06)	2.76 (0.83)
champ	oak	2	5.04 (0.05)	8.66 (1.17)	6.98 (0.4)	0.1 (0.05)	4.51 (0.05)	1.66 (0.03)	0.47 (0.02)	1727.5 (239.65)	0.59 (0.02)	0.11 (0.01)	0.22 (0.07)	2.82 (1.04)
champ	oak	3	5.01 (0.06)	9.64 (1.06)	7.4 (0.63)	0.11 (0.04)	4.71 (0.05)	1.68 (0.04)	0.52 (0.02)	1822.5 (176.16)	0.52 (0.01)	0.12 (0.02)	0.22 (0.07)	2.94 (1.02)
champ	oak	1	5.09 (0.11)	9.39 (1.14)	7.7 (0.86)	0.11 (0.04)	4.77 (0.2)	1.75 (0.08)	0.54 (0.03)	2055 (147.99)	0.55 (0.04)	0.13 (0.01)	0.22 (0.07)	2.95 (0.91)
compche	oak	3	5.09 (0.08)	2.61 (0.91)	1.75 (0.07)	0.15 (0.02)	0.85 (0.03)	0.81 (0.03)	0.1 (0)	218.5 (19.43)	0.29 (0.02)	0.04 (0.01)	0.11 (0.05)	1.56 (0.62)
compche	oak	2	5.32 (0.14)	3.24 (0.93)	1.7 (0.08)	0.16 (0.02)	0.89 (0.05)	0.75 (0.01)	0.1 (0)	155.75 (19.16)	0.25 (0)	0.03 (0.01)	0.12 (0.04)	1.76 (0.53)
compche	oak	4	5.17 (0.13)	2.74 (1)	1.72 (0.1)	0.16 (0.03)	0.84 (0.06)	0.8 (0.03)	0.1 (0.01)	188.5 (21.39)	0.28 (0.01)	0.04 (0.01)	0.12 (0.05)	1.81 (0.78)
compche	oak	1	4.99 (0.03)	2.44 (0.6)	1.64 (0.03)	0.13 (0.03)	0.82 (0.03)	0.75 (0.01)	0.09 (0)	155.25 (29.51)	0.27 (0.01)	0.03 (0.01)	0.12 (0.05)	1.82 (0.65)
font	oak	1	4.67 (0.25)	1.46 (0.54)	0.99 (0.06)	0.06 (0.02)	0.32 (0.03)	0.64 (0.03)	0.03 (0)	192.9 (87.25)	0.14 (0.01)	0.02 (0.01)	0.11 (0.06)	1.89 (1.16)
font	oak	3	4.47 (0.22)	1.31 (0.53)	0.98 (0.06)	0.06 (0.02)	0.33 (0.03)	0.63 (0.02)	0.03 (0)	187.28 (94)	0.15 (0.01)	0.02 (0.01)	0.12 (0.07)	2.2 (1.26)
font	oak	2	4.49 (0.23)	1.42 (0.51)	0.97 (0.06)	0.07 (0.03)	0.33 (0.04)	0.62 (0.02)	0.03 (0)	180.95 (75.6)	0.15 (0.01)	0.02 (0.01)	0.13 (0.08)	2.32 (1.45)
font	oak	4	4.54 (0.19)	1.46 (0.53)	1.29 (0.4)	0.08 (0.01)	0.5 (0.21)	0.71 (0.12)	0.05 (0.03)	206.03 (123.19)	0.19 (0.06)	0.03 (0.01)	0.13 (0.09)	2.37 (1.48)

gro	oak	2	4.69 (0.13)	1.67 (0.63)	2.72 (0.18)	0.04 (0.03)	0.66 (0.01)	1.19 (0.08)	0.08 (0)	744.25 (122.48)	0.15 (0.01)	0.05 (0.01)	0.12 (0.07)	2.17 (1.28)
gro	oak	3	4.88 (0.06)	2.91 (0.46)	3.08 (0.15)	0.05 (0.02)	0.88 (0.04)	1.22 (0.07)	0.11 (0)	839.75 (93.33)	0.16 (0.01)	0.05 (0.01)	0.13 (0.07)	2.23 (1.22)
gro	oak	1	4.73 (0.12)	2.27 (0.46)	2.67 (0.11)	0.04 (0.03)	0.72 (0.04)	1.18 (0.05)	0.08 (0)	671.5 (94.71)	0.13 (0.01)	0.05 (0.01)	0.13 (0.07)	2.29 (1.21)
gro	oak	4	4.77 (0.08)	2.74 (0.69)	2.95 (0.2)	0.07 (0.01)	0.77 (0.04)	1.12 (0.06)	0.09 (0)	740.75 (106.5)	0.13 (0)	0.05 (0.01)	0.14 (0.08)	2.41 (1.56)
reich	oak	3	4.89 (0.04)	3.8 (0.83)	3.86 (0.11)	0.21 (0.02)	1.65 (0.05)	1.45 (0.03)	0.25 (0.01)	827.25 (100.2)	0.75 (0.03)	0.06 (0.01)	0.11 (0.04)	1.78 (0.81)
reich	oak	4	4.79 (0.01)	3.21 (0.81)	3.71 (0.09)	0.21 (0.05)	1.55 (0.04)	1.47 (0.04)	0.23 (0.01)	740.25 (88.49)	0.74 (0.02)	0.06 (0.01)	0.11 (0.04)	1.8 (0.67)
reich	oak	2	4.86 (0.03)	3.21 (0.77)	3.65 (0.1)	0.2 (0.03)	1.47 (0.02)	1.44 (0.05)	0.22 (0)	637.25 (62.61)	0.72 (0.02)	0.06 (0.01)	0.11 (0.05)	1.92 (0.82)
reich	oak	1	4.83 (0.05)	3.41 (0.7)	3.86 (0.25)	0.21 (0.04)	1.55 (0.04)	1.49 (0.1)	0.24 (0.01)	693.25 (68.51)	0.77 (0.04)	0.06 (0.02)	0.12 (0.06)	2.16 (1.22)
tron	oak	1	5.1 (0.06)	1.48 (0.52)	2.86 (0.16)	0.04 (0.03)	0.77 (0.01)	2.03 (0.2)	0.08 (0)	1855 (219.39)	0.16 (0.01)	0.06 (0.01)	0.09 (0.02)	1.51 (0.83)
tron	oak	4	5.11 (0.01)	1.63 (0.41)	3.17 (0.12)	0.04 (0.02)	0.88 (0.02)	2.29 (0.13)	0.09 (0)	1835 (185.83)	0.19 (0.01)	0.07 (0.01)	0.09 (0.03)	1.26 (0.72)
tron	oak	3	5.1 (0.04)	1.47 (0.54)	2.85 (0.15)	0.04 (0.03)	0.75 (0.02)	2.08 (0.12)	0.08 (0)	1675 (173.21)	0.16 (0.01)	0.06 (0.01)	0.09 (0.04)	1.57 (0.93)
tron	oak	2	5.15 (0.04)	1.7 (0.52)	3.28 (0.16)	0.06 (0.06)	0.87 (0.02)	2.41 (0.14)	0.09 (0)	1940 (152.75)	0.2 (0.01)	0.07 (0.01)	0.09 (0.04)	1.45 (0.86)

Table S1 Soil chemical characteristics at the 11 experimental sites. The average values have been calculated for the three soil depths for each treatment. Standard deviations are given in parentheses.

4. Utilisation complémentaire de la spectrométrie NIRS-MIRS dans le cadre de la caractérisation initiale des sites MOS

L'article n°1 démontre que la confrontation entre les résultats des ACP réalisées sur les analyses spectrales NIRS/MIRS des sols et des litières, et les résultats d'analyses chimiques effectuées pour les principaux éléments minéraux du sol valide une absence d'interaction initiale entre les caractéristiques des sols et la disposition des quatre traitements tirés aléatoirement au sein des 12 placeaux répétitions de chaque site expérimental MOS. L'analyse de variance emboîtée (proc GLM) ne révèle d'effets significatifs des traitements pour les éléments dont les concentrations ont été mesurées (C, N, pH, CEC, Ca, Mg, K, P, Mn, Al, Fe, Na). Cela met en avant la possibilité d'utiliser la spectrométrie infrarouge NIR et MIR comme un *proxy* des propriétés générales des sols, afin de décrire la variabilité spatiale à l'échelle d'une parcelle forestière dans le but d'optimiser la mise en place de traitements expérimentaux *in situ*.

Dans le cadre du suivi des sols du réseau MOS, on a cherché à employer cet outil à d'autres fins, notamment à la prédiction des concentrations en éléments chimiques des sols.

4.1. Calibration entre les données spectrales et les concentrations en carbone et azote pour les sols et la litière

Les échantillons de sol et de litière pour lesquels ont été mesurées les concentrations en azote et carbone (cf. article n°1) ont parallèlement fait l'objet d'analyses NIRS-MIRS. Le but est de calibrer les données spectrales et les mesures chimiques afin d'obtenir un modèle fiable de prédiction des concentrations en C et N à partir d'analyses spectrométriques.

4.1.1 Elaboration d'un modèle statistique prédictif

Afin de construire un modèle solide applicable aux sites du réseau MOS, il était nécessaire de travailler sur un jeu de données conséquent. 512 échantillons ont été traités, issus des onze sites expérimentaux caractérisés en 2013 pour les trois horizons de sol et pour la litière.

L'étape de calibration entre données spectrales et chimique consiste en une régression PLS (*Partial Least Squares*) par validation croisée (script R par P. Santenoise) (Brunet et al., 2007 ; Bikindou et al., 2012). Des fréquences d'onde de référence, caractéristiques de chaque élément chimique, sont sélectionnées en tant que variables les plus explicatives pour décrire

les variables cibles, ici, les données NIR ou MIR. Ces fréquences de référence correspondent aux variables VIP (*variables important in projection*).

4.1.2 Résultats des calibrations

L'étape de calibration par régression PLS a permis d'établir un modèle prédictif pour le carbone et pour l'azote pour chaque horizon étudié à partir du NIR et MIR. Selon les horizons et l'élément, la qualité du modèle est meilleure en proche ou moyen infrarouges. Cette qualité est déterminée par le coefficient de régression r^2 ainsi que par le nombre de composantes constituant le modèle, d'autant plus important que le modèle est solide. De manière générale, les modèles construits à partir des données MIR apparaissent plus pertinents pour le carbone et pour les horizons organiques et les spectres NIR pour prédire l'azote dans le sol.

AZOTE	MIR	NIR	CARBONE	MIR	NIR
global	$r^2=0,994$ 16 comp	$r^2=0,991$ 11 comp	global	$r^2=0,997$ 15 comp	$r^2=0,998$ 16 comp
litière	$r^2=0,998$ 15 comp	$r^2=0,818$ 4 comps	litière	$r^2=1$ 16 comp	$r^2=1$ 15 comp
0-5cm	$r^2=0,963$ 8 comp	$r^2=0,983$ 10 comp	0-5cm	$r^2=0,99$ 12 comp	$r^2=0,955$ 8 comp
5-10cm	$r^2=0,837$ 6 comp	$r^2=0,936$ 7 comp	5-10cm	$r^2=0,816$ 6 comp	$r^2=0,864$ 6 comp
10-20cm	$r^2=0,933$ 9 comp	$r^2=0,979$ 10 comp	10-20cm	$r^2=0,98$ 13 comp	$r^2=0,969$ 9 comp

Table II. 2 : Comparatif des modèles NIR/MIR pour azote et carbone. Les modèles retenus par élément et horizon sont indiqués en gras.

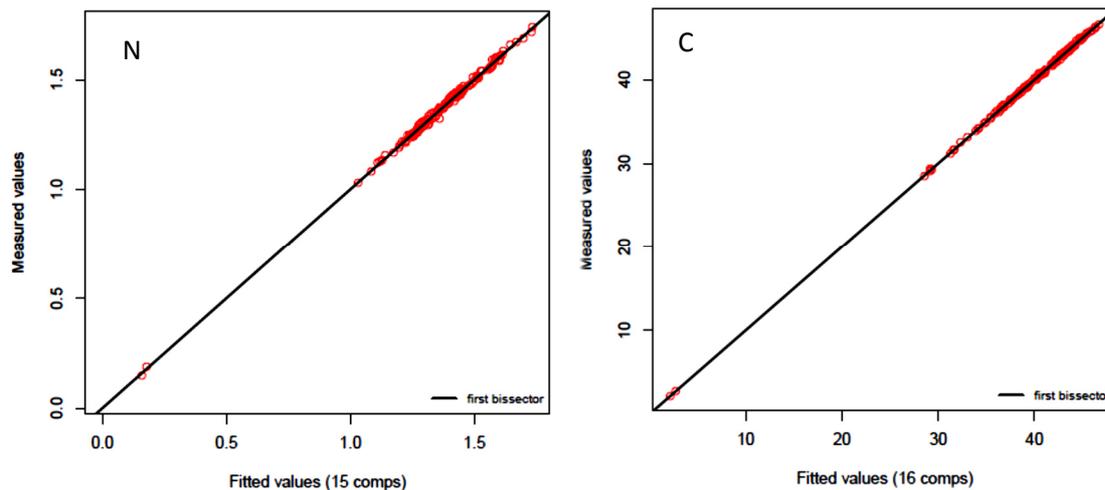


Figure II. 5 : Corrélation entre les valeurs prédites et les valeurs mesurées dans la litière pour l'azote ($r^2=0.998$) et pour le carbone ($r^2=1$) à partir des données MIR

Cette légère différence d'efficacité entre NIRS et MIRS selon l'élément prédit avait été relevée dans la bibliographie qui confirme une préférence pour les moyens infrarouge pour prédire les composés organiques et carbonés (Ludwig et al., 2008 ; Reeves, 2009, Bellon-Maurel & Bratney, 2011) sans pour autant trancher en faveur de l'une des méthodes. La meilleure robustesse des modèles prédictifs obtenus à partir de validation croisée sur les données MIR serait explicable par la moindre sensibilité de la spectrométrie moyen infrarouges aux « erreurs machine » par rapport à la spectrométrie NIR (Bellon-Maurel & Bratney, 2011). Ce biais serait d'autant plus présent que le jeu de données est important et hétérogène.

4.2. Cartographie des teneurs en carbone et azote à partir des analyses spectrométriques

Les modèles retenus sont ensuite appliqués à l'ensemble des données spectrales des échantillons initiaux de la phase de prospection. On obtient ainsi les teneurs en azote et en carbone, qui ont pu être cartographiées pour chacun des sites pour chaque horizon. Les cartes ont été réalisées sous QGis, en utilisant des polygones de Voronoï, calculés à partir des coordonnées des points de prélèvement, relevées sur le terrain (projection Lambert 93).

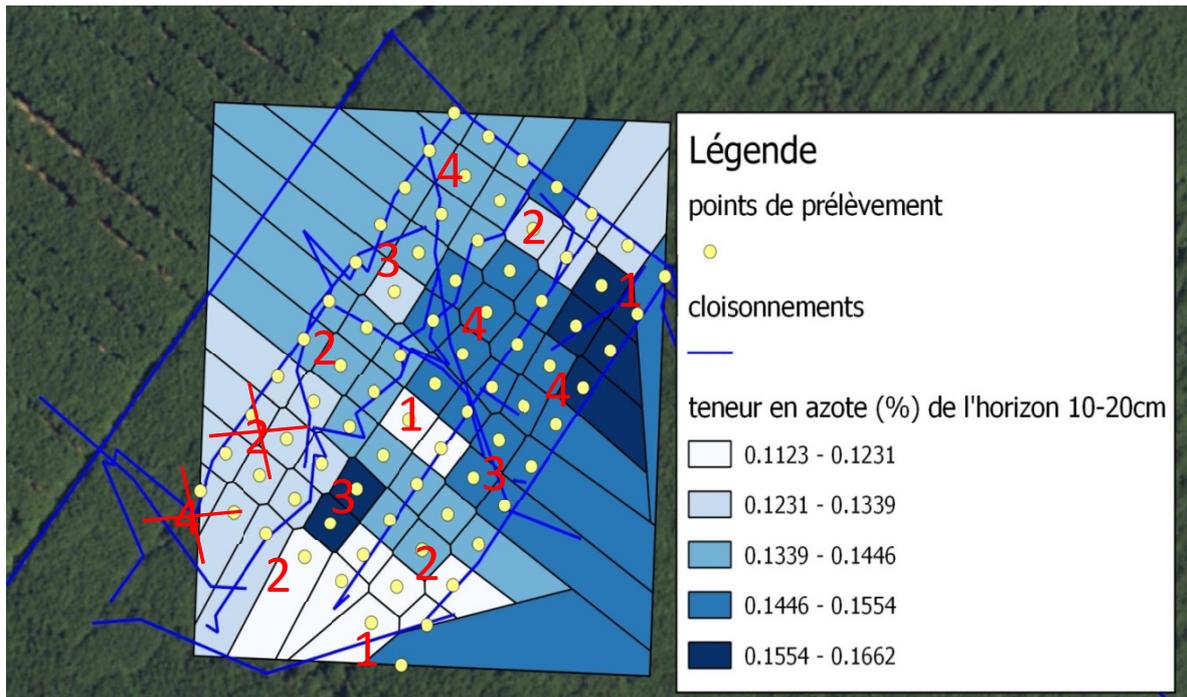


Figure II.6 : Carte des teneurs en azote de l'horizon 10-20 cm (en %) par points de prélèvement (1.Témoin, 2.Retrait des rémanents, 3.Retrait des rémanents +apports de cendres, 4.Retrait des rémanents et de la litière)

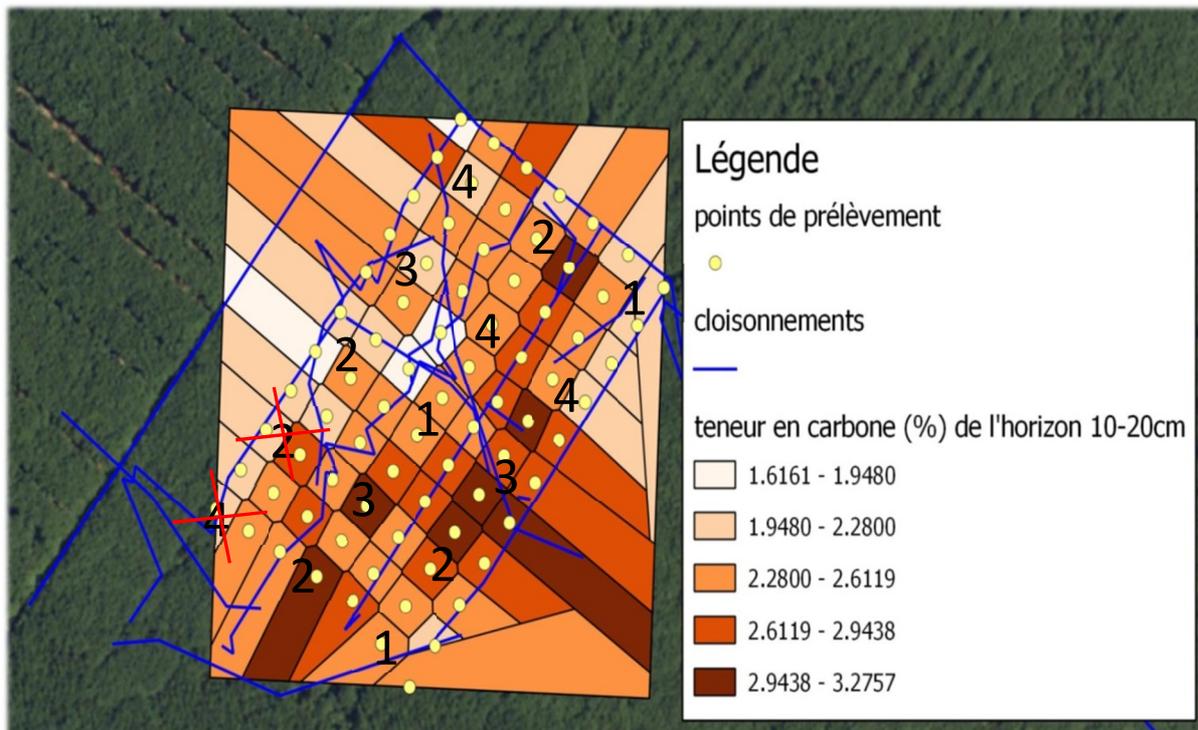


Figure II.7 : Carte des teneurs en carbone (%) de l'horizon 10-20 cm par points de prélèvements (1.Témoin, 2.Retrait des rémanents, 3. Retrait des rémanents +apports de cendres, 4.Retrait des rémanents et de la litière)

5. Références

- Albrecht, R., Joffre, R., Petit, J.L., Terrom, G., Périssol, C., 2008. Calibration of chemical and biological changes in cocomposting of biowastes using near-infrared spectroscopy. *Environmental science & technology* 43, 804–811.
- Allison, S.D., Martiny, J.B., 2008. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 11512–11519.
- Allmér, J., Stenlid, J., Dahlberg, A., 2009. Logging-residue extraction does not reduce the diversity of litter-layer saprotrophic fungi in three Swedish coniferous stands after 25 years. *Canadian Journal of Forest Research* 39, 1737–1748.
- Badeau V., Dupouey JL., Cluzeau C., Drapier J., Le Bas C. 2004. Projet CARBOFOR : Séquestration de carbone dans les grands écosystèmes forestiers en France. Tâche D1 : Modélisation et cartographie de l'aire climatique potentielle des grandes essences forestières françaises. ECOFOR n° 2002.17 INRA n° 4154 B
- Bellon-Maurel, V., McBratney, A., 2011. Near-infrared (NIR) and mid-infrared (MIR) spectroscopic techniques for assessing the amount of carbon stock in soils – Critical review and research perspectives. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1398–1410.
- Bikindou, F.D.A., Gomat, H.Y., Deleporte, P., Bouillet, J.-P., Moukini, R., Mbedi, Y., Ngouaka, E., Brunet, D., Sita, S., Diazenza, J.-B., Vouidibio, J., Mareschal, L., Ranger, J., Saint-André, L., 2012. Are NIR spectra useful for predicting site indices in sandy soils under Eucalyptus stands in Republic of Congo? *Forest Ecology and Management* 266, 126–137.
- Brunet, D., Barthès, B.G., Chotte, J.-L., Feller, C., 2007. Determination of carbon and nitrogen contents in Alfisols, Oxisols and Ultisols from Africa and Brazil using NIRS analysis: Effects of sample grinding and set heterogeneity. *Geoderma* 139, 106–117.
- Cécillon, L., Barthès, B.G., Gomez, C., Ertlen, D., Genot, V., Hedde, M., Stevens, A., Brun, J.J., 2009. Assessment and monitoring of soil quality using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *European Journal of Soil Science* 60, 770–784.
- Cécillon, L., Brun, J.-J., 2007. Near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS): a practical tool for the assessment of soil carbon and nitrogen budget. *COST Action 639: Greenhouse-gas Budget of Soils Under Changing Climate and Land Use (BurnOut)*. 103-110.
- Chang, C.-W., Laird, D.A., Mausbach, M.J., Hurburgh, C.R., 2001. Near-infrared reflectance spectroscopy–principal components regression analyses of soil properties. *Soil Science Society of America Journal* 65, 480–490.
- Cheaib A, Badeau V, Boe J, Chuine I, Delire C, Dufrêne E, Leadley P (2012). Climate change impacts on tree ranges: model intercomparison facilitates understanding and quantification of uncertainty. *Ecology letters*, 15(6), 533-544.
- Fayle TM, Turner EC, Basset Y, Ewers RM, Reynolds G, Novotny V, (2015) Whole-ecosystem experimental manipulations of tropical forests. *Trends in Ecology & Evolution* 30, 334–346.
- Gaudin, S., 2007. Prise en compte des changements climatiques dans la distribution et l'évolution des êtres vivants (http://www.sylvaingaudin.fr/PDF/Sesnr22-Changement_climatique.pdf)

- Geßler A, Keitel C, Kreuzwieser J, Matyssek R, Seiler W, Rennenberg H (2006) Potential risks for European beech (*Fagus sylvatica* L.) in a changing climate. *Trees* 21, 1–11.
- He, Y., Song, H.Y., Pereira, A.G., Gómez, A.H. 2005. Measurement and analysis of soil nitrogen and organic matter content using near-infrared spectroscopy techniques. *J Zhejiang Univ SCI* 6B(11), 1081-1086.
- Helmisaari HS, Hanssen KH, Jacobson S, Kukkola M, Luiro J, Saarsalmi A, Tamminen P, Tveite B (2011) Logging residue removal after thinning in Nordic boreal forests: Long-term impact on tree growth. *Forest Ecology and Management* 261, 1919–1927. doi:10.1016/j.foreco.2011.02.015
- Holcomb RW. 1996. The Long-Term Soil Productivity study in British Columbia. FRDA report 256. Canadian Forest Service and British Columbia Ministry of Forests: Victoria, BC, Canada.
- Hope GD. 2006. Establishment of long-term soil productivity studies on acidic soils in the interior douglas-fir zone. LTSP Research Note . British Columbia Ministry of Forests and Range: Victoria BC, Canada, p 4.
- Jones, H.E., Madeira, M., Herraéz, L., Dighton, J., Fabião, A., González-Rio, F., Marcos, M.F., Gomez, C., Tomé, M., Feith, H., others, 1999. The effect of organic-matter management on the productivity of *Eucalyptus globulus* stands in Spain and Portugal: tree growth and harvest residue decomposition in relation to site and treatment. *Forest Ecology and Management* 122, 73–86.
- Ludwig, B., Nitschke, R., Terhoeven-Urselmans, T., Michel, K., Flessa, H., 2008. Use of mid-infrared spectroscopy in the diffuse-reflectance mode for the prediction of the composition of organic matter in soil and litter. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 171, 384–391.
- Nambiar, E.K., Ranger, J., Tiarks, A., Toma, T. (Eds.), 2004. Site management and productivity in tropical plantation forests: proceedings of workshops in Congo July 2001 and China February 2003. Center for International Forestry Research, Bogor, Indonesia.
- Nambiar, E.K.S., Cossalter, C., Tiarks, A.E. (Eds.), 1999. Site management and productivity in tropical plantation forests: workshop proceedings, 16-20 February 1998, Pietermaritzburg, South Africa. Center for International Forestry Research, Bogor, Indonesia.
- Odlare, M., Svensson, K., Pell, M., 2005. Near infrared reflectance spectroscopy for assessment of spatial soil variation in an agricultural field. *Geoderma* 126, 193–202.
- Patzold, S., Mertens, F.M., Bornemann, L., Koleczek, B., Franke, J., Feilhauer, H., Welp, G., 2008. Soil heterogeneity at the field scale: a challenge for precision crop protection. *Precision Agriculture* 9, 367–390.
- Perez-Batallon, P., Ouro, G., Macias, F., Merino, A., 2001. Initial mineralization of organic matter in a forest plantation soil following different logging residue management techniques. *Ann. For. Sci.* 58, 807–818.
- Piedallu C, Perez V, Gégout JC, Lebourgeois F, Bertrand R, (2009) Impact potentiel du changement climatique sur la distribution de l'Épicéa, du Sapin, du Hêtre et du Chêne sessile en France. *Revue forestière française* 61, 567–593.
- Ponder, F., Fleming, R.L., Berch, S., Busse, M.D., Elioff, J.D., Hazlett, P.W., Kabzems, R.D., Marty Kranabetter, J., Morris, D.M., Page-Dumroese, D., Palik, B.J., Powers, R.F., Sanchez, F.G., Andrew Scott, D., Stagg, R.H., Stone, D.M., Young, D.H., Zhang, J., Ludovici, K.H., McKenney, D.W., Mossa, D.S., Sanborn, P.T., Voldseth, R.A., 2012. Effects of organic matter removal, soil compaction and vegetation control on 10th year biomass and foliar nutrition: LTSP continent-wide comparisons. *Forest Ecology and Management* 278, 35–54.

- Powers, R., Scott, D., Sanchez, F., Voldseth, R., Page-Dumroese, D., Elioff, J., Stone, D., 2005. The North American long-term soil productivity experiment: Findings from the first decade of research. *For. Ecol. Manage.* 220, 31–50.
- Reeves, J., McCarty, G., Mimmo, T., 2002. The potential of diffuse reflectance spectroscopy for the determination of carbon inventories in soils. *Environmental pollution* 116, S277–S284
- Smolander, A., Kitunen, V., Tamminen, P., Kukkola, M., 2010. Removal of logging residue in Norway spruce thinning stands: Long-term changes in organic layer properties. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 1222–1228.
- Stampfli, A., Fuhrer, J., 2010. Spatial heterogeneity confounded ozone-exposure experiment in semi-natural grassland. *Oecologia* 162, 515–522.
- Stenberg, B., Viscarra Rossel, R.A., Mouazen, A.M., Wetterlind, J., 2010. Visible and Near Infrared Spectroscopy in Soil Science, in: *Advances in Agronomy*. Elsevier, pp. 163–215.
- Tatzber, M., Mutsch, F., Mentler, A., Leitgeb, E., Englisch, M., Zehetner, F., Djukic, I., Gerzabek, M.H., 2011. Mid-infrared spectroscopy for topsoil layer identification according to litter type and decompositional stage demonstrated on a large sample set of Austrian forest soils. *Geoderma* 166, 162–170.
- Tedersoo, L., Kõljalg, U., Hallenberg, N., Larsson, K.-H., 2003. Fine scale distribution of ectomycorrhizal fungi and roots across substrate layers including coarse woody debris in a mixed forest. *New Phytologist* 159, 153–165.
- Terhoeven-Urselmans, T., Schmidt, H., Georg Joergensen, R., Ludwig, B., 2008. Usefulness of near-infrared spectroscopy to determine biological and chemical soil properties: Importance of sample pre-treatment. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 1178–1188.
- Thiffault, E., Hannam, K.D., Paré, D., Titus, B.D., Hazlett, P.W., Maynard, D.G., Brais, S., 2011. Effects of forest biomass harvesting on soil productivity in boreal and temperate forests — A review. *Environmental Reviews* 19, 278–309.
- Walker, J.K.M., Ward, V., Paterson, C., Jones, M.D., 2012. Coarse woody debris retention in subalpine clearcuts affects ectomycorrhizal root tip community structure within fifteen years of harvest. *Applied Soil Ecology* 60, 5-15.
- Wall, A., Hytönen, J., 2011. The long-term effects of logging residue removal on forest floor nutrient capital, foliar chemistry and growth of a Norway spruce stand. *Biomass and Bioenergy* 35, 3328–3334.
- ZHOU, Y., WANG, S., LU, H., XIE, L., XIAO, D., 2010. Forest soil heterogeneity and soil sampling protocols on limestone outcrops: example from China. *ACTA CARSOLOGICA* 1, 39.

CHAPITRE III

Facteurs environnementaux et structure des communautés
fongiques des sols forestiers, approche biogéographique dans
un contexte de changements globaux

La deuxième composante observée sur les sites du réseau MOS correspond à la biodiversité des sols. Dans le cadre de cette thèse, on s'intéresse plus spécialement à la diversité fongique des onze sites expérimentaux en peuplements feuillus. Les nouvelles technologies de séquençage (NGS), développées ces dernières années, permettent d'exploiter un large nombre d'échantillons environnementaux, prélevés sur des gradients de pluviométrie ou de température, et de générer une importante quantité de données à partir de l'ADN extrait des prélèvements de sol. Ce chapitre a pour objectif de décrire la diversité des communautés fongiques sur les sites feuillus du réseau MOS à l'état initial, avant la mise en place des différents traitements *in situ*. Il présente la structure de ces communautés à l'échelle régionale en fonction des facteurs édaphiques et climatiques. Plus particulièrement, le rôle prépondérant des espèces ectomycorhiziennes dans la nutrition des arbres forestiers, et dans le turn-over des matières organiques des sols, appelle à suivre ce groupe dans le cadre du réseau MOS. Une étude restreinte à ces assemblages met en évidence une réponse de ces taxons différente de celles des autres champignons telluriques. Du fait de leur association symbiotique avec les arbres forestiers, leur sensibilité plus marquée aux facteurs climatiques est alors à considérer dans le contexte actuel de changements globaux. Ces travaux ont fait l'objet d'un article soumis à la revue *Global Change Biology*.

1. Caractérisation la diversité fongique des sols

1.1 Les indicateurs de diversité

L'évaluation de la diversité d'une communauté nécessite de considérer deux composantes distinctes : la **richesse spécifique** et l'**abondance relative**.

La richesse spécifique correspond au nombre d'espèces différentes observées dans l'échantillonnage. Lorsque l'identification taxonomique à l'échelle de l'espèce n'est pas complètement établie comme c'est souvent le cas pour les communautés fongiques, il est plus adéquat de quantifier la **richesse taxonomique** en se fondant sur les taxons différents identifiés (dont l'identification est en général plus complète).

L'abondance relative représente le nombre d'individus présents par taxon identifié. Elle rejoint la notion d'**équité** qui évalue la répartition des individus par taxon. Les indices de richesse les plus couramment utilisés tels que les indices de Shannon ou de Simpson permettent d'estimer la diversité d'une communauté en tenant compte à la fois du nombre de taxons et de leur représentativité en termes de nombre d'individus.

La diversité est souvent décrite selon trois échelles d'étude. La diversité α caractérise la diversité locale sur un écosystème de taille fixe. La diversité β correspond à la diversité taxonomique entre plusieurs écosystèmes différents ou sur un gradient d'habitats, fournissant des informations sur la diversité « inter-site ». Le dernier niveau d'étude, la diversité γ se mesure sur la totalité de l'aire de répartition considérée (échelle régionale) (Marcon, 2014).

Le concept de diversité peut enfin se décliner entre la **diversité spécifique ou taxonomique**, fondée sur la proximité phylogénétique et l'identification des espèces et des taxons, et la **diversité fonctionnelle**. Cette dernière se mesure en rassemblant les espèces ou taxons selon la similarité des fonctions qu'ils remplissent au sein de l'écosystème. Les traits écologiques des espèces ou des taxons sont décrits à partir de leur statut trophique et de leur mode de vie. Chez les champignons, en lien direct avec les modes d'acquisition du carbone, on distingue trois grands types trophiques : les symbiotiques, les pathogènes et les saprotrophes. Tedersoo et collaborateurs (2014) ont classé plus de 10 600 taxons fongiques en 16 mode de vie distincts pouvant correspondre à un trait fonctionnel. Néanmoins la classification par mode trophique chez les champignons n'est pas aisée en raison de la « polyvalence » fonctionnelle de nombreuses espèces et de la grande proportion de taxons pour lesquels le type trophique est inconnu.

1.2 Les méthodes d'analyse moléculaire de la diversité fongique

1.2.1 Principe de l'analyse biomoléculaire en écologie de communautés

La nature microscopique des champignons sylvestres a longtemps contraint les écologistes microbiens à limiter leur échelle d'investigation très localement en milieu naturel, ou de pratiquer, à plus large échelle, des inventaires de fructifications (Last et al., 1987). Ces relevés sur le terrain, à l'échelle de la parcelle forestière au massif, restreignaient les études aux seuls champignons supérieurs produisant des carpophores épigés, principalement appartenant aux Basidiomycètes. Les autres espèces telluriques, comme les Zygomycètes ou de nombreux Ascomycètes se trouvaient alors exclues. Du fait de l'échantillonnage limité et des contraintes liées aux conditions environnementales et saisonnières, les inventaires de fructifications ne permettaient pas de saisir l'ensemble de la diversité fongique des sols forestiers. En effet, le nombre de carpophores ne constitue pas un proxy fiable pour évaluer réellement l'abondance des espèces (Horton & Bruns, 2001 ; Taylor, 2002). Dans le cas des champignons ectomycorhiziens, les descriptions ont été longtemps réalisées par caractérisation anatomique et morphologique des apex mycorhiziens. Mais l'avènement de

l'écologie moléculaire dans les années 1990, a permis d'aborder la diversité fongique à partir d'ADN extrait du sol et d'appréhender l'ensemble des espèces (Dahlberg, 2001).

Les analyses biomoléculaires de *barcoding* reposent sur l'utilisation de marqueurs moléculaires spécifiques, issus d'un fragment de génome. A partir de l'ADN (ou l'ARN) extrait du sol échantillonné, ces régions sont amplifiées par PCR (Réaction de Polymérisation en Chaîne), séquencées puis assignées taxonomiquement à partir de base de données (figure III.1).

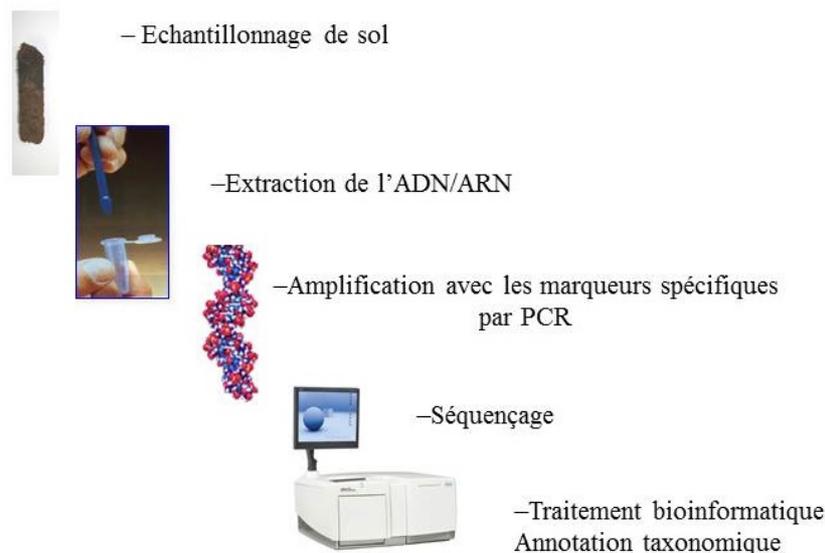


Figure III. 1 : Principe des analyses biomoléculaires

Des amorces spécifiques qui encadrent ces marqueurs moléculaires (barcodes) doivent être utilisables pour cibler plusieurs groupes taxonomiques, polymorphes et de courte taille (< 1000 paires de bases ou < 500 pb pour les NGS). Chez les Champignons, l'unité 18S très conservative encadre une région transcrite moins conservée et présentant plus de variabilité, la région ITS (Internal Transcribed Spacer) (figure II.2). Cette région ITS a été sélectionnée comme marqueur moléculaire universel des champignons (Schoch et al. 2012). Ces approches moléculaires ont été fortement développées pour l'identification spécifique des apex mycorhiziens en association avec des études de morphotypage en complétant les connaissances solides de ce groupe écologique (Gardes & Bruns, 1996).



Figure III. 2 : Carte de la région ITS et localisation des amorces ITS-1F/ITS2 amplifiant la zone ITS1

Les techniques d'identification à partir de marqueurs de type microsatellites (SSR, Simple Sequence Repeats) ou RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) reposent sur ces approches moléculaires.

1.2.2 Les méthodes de séquençage haut-débit : avancées et limites

Ces approches par metabarcoding à haut débit comme le pyroséquençage 454 ont considérablement amélioré la connaissance de la diversité microbienne des sols et ont permis d'appréhender la globalité de leur richesse et de leur diversité (Buée et al., 2009). Mise au point très récemment, la technologie Illumina MiSeq génère un très large nombre de séquences par paires de bases, à moindre coût que le séquençage 454, et offre une profondeur de séquençage bien plus importante (Schmidt et al., 2013). La profondeur de séquençage est définie comme le rapport entre la longueur totale des séquences mises bout à bout et de la longueur du génome ciblé. Elle correspond donc à la part du génome couverte par l'ensemble des séquences, chevauchantes, qui sont lues et assemblés au cours du séquençage. La profondeur de séquençage est d'autant plus importante que la couverture du génome ciblé est grande.

Ces méthodes de pointe ont nécessité la mise au point d'outils bio-informatiques adaptés pour répondre aux exigences de traitements de données en sortie de séquençage ainsi que pour la phase d'assignation taxonomique (Altschul et al., 1990 ; Kõljalg et al., 2013). En effet, ces technologies fournissent des jeux de données de taille très conséquente, aux alentours de 15 millions de séquences par run de séquençage (xx Mo).

L'étude n'est alors plus réalisée uniquement à l'échelle de l'espèce mais au niveau d'unités taxonomiques opérationnelles moléculaires (MOTU) qui correspondent aux séquences identifiées et groupées selon leur niveau de similarité, le seuil de 97% de similarité étant généralement admis pour les champignons (Edgar, 2010). L'approche par metabarcoding, dont la profondeur de séquençage ne cesse de progresser, donne accès avec plus de sensibilité aux espèces peu fréquentes ou peu abondantes (Coince, 2013). Néanmoins, cette finesse de

détection pourrait être à l'origine d'une surestimation de la richesse taxonomique échantillonnée (notamment dans le cas de la richesse microbienne), en partie due à la difficulté de distinguer clairement les artefacts (Thomsen & Willerslev, 2015). Il est aussi souligné le risque de prendre en compte de nombreux MOTUs très faiblement représentés dans la description de la structure de la diversité fongique (Lindahl et al., 2013).

Dans leur revue de 2015 traitant de l'utilisation de l'ADN environnemental en écologie, Thomsen & Willerslev synthétisent les avantages et inconvénients de l'approche metabarcoding dans le cadre de suivi de la biodiversité. L'ADN environnemental correspond à l'ADN extrait directement à partir d'échantillons prélevés en milieu naturel (sol, eau, atmosphère) sans isolement préalable. Ils mettent en avant les progrès liés à la standardisation des méthodes, la rentabilité, le débit de données générées et la sensibilité de ces méthodes. Ils insistent également sur le caractère non-invasif et sur la facilité d'échantillonnage qui évite les difficultés liées au travail sur le terrain (inventaires, etc.), en particulier des conditions saisonnières et climatiques. Dans le cas des études sur la diversité fongique, l'avantage n'est pas négligeable et permet de s'affranchir des questions de saisonnalité des périodes de fructification des espèces. Lindahl et al. (2013) soulèvent également un certain nombre de limites liées l'utilisation et l'exploitation de ces NGS. Les risques de contamination, susceptibles de se produire depuis la phase de prélèvement/échantillonnage jusqu'aux analyses en laboratoire, constituent un souci majeur, lié à la grande sensibilité de l'identification à partir d'ADN environnemental. Les techniques de metabarcoding peuvent voir leur efficacité mise à mal par la multiplication des erreurs au cours des diverses étapes. Les difficultés d'analyse relatives aux différences d'affinité des amorces pour certaines séquences, et donc pour certains taxons, induisent des biais dans le traitement de la diversité totale à l'échelle de l'échantillon. Les erreurs au niveau du séquençage ou de l'assignation taxonomique sont aussi à considérer. De manière générale, la taille considérable des jeux de données générées par NGS impliquent un important travail de tri et de nettoyage tout au long des processus, et notamment lors du traitement bio-informatique des séquences obtenues ainsi qu'une mise à jour régulière des bases de données taxonomiques.

Au cours de ce travail de thèse, l'analyse des communautés fongiques des sols a été effectuée sur les onze sites chênes et hêtre du réseau MOS. Cette description à grande échelle par une toute nouvelle technologie de séquençage (Illumina, MiSeq 2x300pb) revêt un caractère innovant, puisqu'elle a encore très peu été appliquée à une étude de metabarcoding (Taberlet

et al. 2012) chez les champignons (DeAngelis et al., 2015 ; Oliver et al., 2015 ; Yarwood et al., 2015).

2. Structure des communautés ectomycorhiziennes en fonction des paramètres environnementaux

2.1 Une diversité structurée par l'essence-hôte

Du fait de leur étroite association avec leur arbre-hôte, la distribution des champignons ectomycorhiziens est fortement structurée par l'essence en symbiose. Plusieurs dizaines d'espèces ectomycorhiziennes différentes peuvent coexister sur le système racinaire d'un même arbre. D'un autre côté, ces espèces ne sont pas forcément spécifiques pour un hôte et peuvent se trouver partagées sur différentes essences hôtes. Ainsi, en travaillant au niveau des morphotypes des apex mycorhiziens, Massicotte et al (1999) ont montré qu'une large proportion de morphotypes était partagée entre cinq essences forestières résineuses. Un petit nombre se révélait spécifique au niveau du genre ou de l'espèce alors quelques morphotypes étaient totalement ubiquistes. Ces résultats mettaient aussi en évidence l'importance de maintenir une diversité de peuplement afin de préserver celle des cortèges ectomycorhiziens. Ce partage des nombreux morphotypes mycorhiziens sur plusieurs essences hôtes en forêt mélangée a été largement identifié, en particulier sur des peuplements résineux (Dahlberg, 2001). D'autres travaux comparant peuplements mélangés et plantations monospécifiques aboutissaient au constat que la diversité des essences forestières était directement corrélée à la diversité fongique. Les campagnes d'inventaires mycologiques menées sur plusieurs types de peuplements naturels ou plantés dans Morvan montraient une richesse spécifique en champignons ectomycorhiziens et saprotrophes supérieurs dans les peuplements naturels par rapport à celle des plantations monospécifiques (Buée et al., 2011).

La nature de l'essence hôte joue donc un rôle essentiel dans la structuration de la diversité des champignons mycorhiziens. Elle est considérée comme l'un des facteurs les plus influents (Dahlberg, 2001) avec les propriétés du sol. Cela est également vrai dans des écosystèmes non forestiers comme les prairies alpines permanentes (Pelissier et al., 2013). Les inventaires de carpophores réalisés dans le Morvan ont révélé une claire différenciation des communautés fongiques selon l'essence dominante du peuplement, notamment entre feuillus et résineux (Buée et al., 2011). Les espèces ectomycorhiziennes feraient preuve d'une préférence particulière pour l'essence hôte (Ishida et al., 2007; Tedersoo et al., 2008, 2010). La similarité entre les cortèges mycorhiziens est d'autant plus marquée que les essences hôtes sont

taxonomiquement proches et qu'elles présentent des stratégies écologiques comparables (Ishida et al., 2007 ; Tedersoo et al., 2008). La diversité des cortèges fongiques serait aussi un facteur permettant l'installation d'une pluralité d'espèces forestières (Nara, 2006).

Des effets indirects de l'essence hôte ont été évoqués pour expliquer la composition des communautés ectomycorhiziennes en relation avec la diversité végétale. La qualité des litières foliaires, directement liée avec la vitesse de décomposition, pourraient ainsi indirectement impacter la structure des communautés de champignons mycorhiziens en fonction l'essence (Aponte et al., 2010). Les champignons du sol présentent une organisation verticale importante (Dickie et et al., 2002 ; Lindahl et al., 2007) et il a été montré une corrélation significative entre la densité des racines fines et la richesse taxonomique (Coince, 2013).

L'âge du peuplement joue aussi un rôle essentiel dans la richesse et la composition spécifique des communautés ectomycorhiziennes. Des inventaires de carpophores en zone de montagne au Japon ont révélé une production de fructification et une diversité spécifique positivement corrélées avec le développement de l'essence-hôte (*Salix reinii*) dans les premiers stades (Nara et al. 2003). En forêt tempérée, une étude menée le long d'une chronoséquence d'un peuplement mélangé feuillu et résineux met en évidence une diversité fongique plus faible sur les jeunes peuplements et une composition spécifique des assembles ectomycorhiziens différente selon les stades (Twieg et al., 2007). Les jeunes stades semblent colonisés par des espèces présentant une forte spécificité d'hôte alors que les espèces généralistes étaient dominantes dans les peuplements plus âgés.

2.2 Importance des facteurs édaphiques dans la structuration des communautés ectomycorhiziennes

La diversité et la richesse des champignons telluriques sont fortement influencées par les propriétés édaphiques de l'environnement, en particulier par le pH du sol (Rousk et al., 2009 ; Tedersoo et al., 2014). Les facteurs du sol structurent aussi largement les cortèges ectomycorhiziens, sensibles aux paramètres directement liés à la disponibilité en nutriments comme les concentrations en calcium, phosphore, carbone organique, azote organique ou C/N (Kernaghan & Harper, 2001 ; Tojlander et al., 2006 ; Tedersoo et al., 2014, Coince et al., 2014 ; Rincon et al., 2015). Une analyse récemment réalisée à l'échelle mondiale à partir de données de metabarcoding, révèle que ces facteurs (principalement le pH, le calcium et le phosphore du sol) régissent la composition et la richesse spécifique globale des communautés fongiques telluriques et ectomycorhiziennes (Tedersoo et al., 2014). Elle met aussi en avant

l'influence de la composition des communautés végétales, directement corrélées avec les mêmes paramètres édaphiques (Allen et al., 2010).

2.3 Paramètres climatiques et diversité ectomycorhizienne

Considérés un temps comme secondaires dans la structuration des communautés fongiques (Dahlberg, 2001), les facteurs climatiques jouent un rôle primordial dans l'explication des patterns de distribution des cortèges fongiques. L'impact du contexte climatique et des modifications de ces paramètres sur la diversité fongique est de plus en plus exploré par des approches biogéographiques, notamment dans le cas des assemblages mycorhiziens (Tedersoo et al., 2014). Se plaçant au centre des préoccupations actuelles autour des changements climatiques, les études s'intéressent aux variations de température, de pluviométrie et d'humidité du sol ainsi qu'aux élévations des teneurs en CO₂ atmosphérique.

Au niveau global, les précipitations annuelles ressortent comme étant un des meilleurs prédicteurs de la richesse et de la diversité totale des champignons du sol, indépendamment de la diversité végétale (Tedersoo et al., 2014). Les champignons telluriques présentent des sensibilités différentes selon le contexte biogéographiques. Des augmentations de température sur des communautés fongiques en toundra arctique ont provoqué des modifications notables de structure des assemblages Ascomycètes sans changement de la richesse spécifique (Semenova et al., 2015). La sensibilité de la température semble différente selon les groupes taxonomiques. Elle affecte la diversité et impacte plus fortement les espèces rares mais les communautés fongiques se révèlent résistante aux élévations de températures sur le court terme (Xiong et al., 2014).

En zone tropicale en revanche, différents niveaux de sécheresse du sol et de teneur en CO₂ ont été testés sur les cortèges associés à un peuplement d'*Eucalyptus saligna* et ont mis en évidence un impact de la sécheresse du sol supérieur à celui du CO₂ atmosphérique (Curlevski et al., 2014). La sécheresse du sol apparaît comme un facteur fortement structurant, par le biais d'une sélection des espèces les plus adaptées au stress hydrique. De par leur participation aux transferts d'eau vers la plante-hôte, les espèces ectomycorhiziennes ont fait l'objet de nombreuses études sur leur sensibilité à ces paramètres (Mohan et al., 2014). La colonisation racinaire et l'abondance des ectomycorhizes sont directement corrélées avec la température et l'humidité du sol ainsi qu'avec la température ambiante et le niveau annuel des précipitations (Swaty et al., 1998). Les épisodes de sécheresse intense modifient la composition des communautés ectomycorhiziennes et provoquent une diminution de la

colonisation racinaire par les ectomycorhizes (Swaty et al., 2004). La réponse négative des champignons ectomycorhiziens à la sécheresse du sol et positive aux élévations du CO₂ atmosphérique les pose en potentiels indicateurs des changements climatiques (Cudlin et al., 2007). Des analyses de communautés le long de gradients altitudinaux impliquant des variations de pluviométrie et de température confirment l'effet structurant de ces facteurs sur la richesse et la composition spécifique des cortèges mycorhiziens (Barham et al., 2011 ; Jarvis et al., 2013 ; Coince et al., 2014 ; Jarvis et al., 2015). Par la nature symbiotique de ces communautés, les effets des paramètres climatiques peuvent correspondre à des impacts directs sur ces assemblages ou bien des effets indirects, par l'intermédiaire des réponses des plantes-hôtes, largement soumises à ces facteurs (Swaty et al., 2004 ; Mohan et al., 2014).

3. Références

- Allen, C.D., Macalady, A.K., Chenchouni, H., Bachelet, D., McDowell, N., Vennetier, M., Kitzberger, T., Rigling, A., Breshears, D.D., Hogg, E.H. (Ted), Gonzalez, P., Fensham, R., Zhang, Z., Castro, J., Demidova, N., Lim, J.-H., Allard, G., Running, S.W., Semerci, A., Cobb, N., 2010. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *Forest Ecology and Management* 259, 660–684.
- Aponte, C., García, L.V., Marañón, T., Gardes, M., 2010. Indirect host effect on ectomycorrhizal fungi: Leaf fall and litter quality explain changes in fungal communities on the roots of co-occurring Mediterranean oaks. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 788–796.
- Altschul SF, GishW, MillerW, Myers EW, Lipman DJ (1990) Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*. 215, 403-410
- Bahram, M., Pölme, S., Kõljalg, U., Zarre, S., Tedersoo, L., 2012. Regional and local patterns of ectomycorrhizal fungal diversity and community structure along an altitudinal gradient in the Hyrcanian forests of northern Iran. *New Phytologist* 193, 465–473.
- Buée, M., Reich, M., Murat, C., Morin, E., Nilsson, R.H., Uroz, S., Martin, F., 2009. 454 Pyrosequencing analyses of forest soils reveal an unexpectedly high fungal diversity. *New Phytologist* 184, 449–456.
- Buée, M., Maurice, J.-P., Zeller, B., Andrianarisoa, S., Ranger, J., Courtecuisse, R., Marçais, B., Le Tacon, F., 2011. Influence of tree species on richness and diversity of epigeous fungal communities in a French temperate forest stand. *Fungal Ecology* 4, 22–31.
- Coince, A., Cordier, T., Lengellé, J., Defosse, E., Vacher, C., Robin, C., Buée, M., Marçais, B., 2014. Leaf and Root-Associated Fungal Assemblages Do Not Follow Similar Elevational Diversity Patterns. *PLoS ONE* 9, e100668.
- Coince, A. 2013. Richesse et diversité des assemblages de champignons et d'oomycètes de hêtraies en relation avec des facteurs climatiques et édaphiques : de la parcelle au continent. Université de Lorraine.
- Cudlin, P., Kieliszewska-Rokicka, B., Rudawska, M., Grebenc, T., Alberton, O., Lehto, T., Bakker, M.R., Børja, I., Konôpka, B., Leski, T., Kraigher, H., Kuyper, T.W., 2007. Fine roots and ectomycorrhizas as indicators of environmental change. *Plant Biosystems - An International Journal*

Dealing with all Aspects of Plant Biology 141, 406–425.

Curlevski, N.J.A., Drigo, B., Cairney, J.W.G., Anderson, I.C., 2014. Influence of elevated atmospheric CO₂ and water availability on soil fungal communities under *Eucalyptus saligna*. *Soil Biology and Biochemistry* 70, 263–271.

Dahlberg, A., 2001. Community ecology of ectomycorrhizal fungi: an advancing interdisciplinary field. *New Phytologist* 150, 555–562.

DeAngelis, K.M., Pold, G., Topçuoğlu, B.D., van Diepen, L.T.A., Varney, R.M., Blanchard, J.L., Melillo, J., Frey, S.D., 2015. Long-term forest soil warming alters microbial communities in temperate forest soils. *Frontiers in Microbiology* 6.

Dickie, I.A., Xu, B., Koide, R.T., 2002. Vertical niche differentiation of ectomycorrhizal hyphae in soil as shown by T-RFLP analysis. *New Phytologist* 156, 527–535.

Edgar, R.C., 2010. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics* 26, 2460–2461. doi:10.1093/bioinformatics/btq461

Gardes, M., Bruns, T.D., 1996. Community structure of ectomycorrhizal fungi in a *Pinus muricata* forest: above-and below-ground views. *Canadian Journal of Botany* 74, 1572–1583.

Horton, T.R., Bruns, T.D., 2001. The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Molecular ecology* 10, 1855–1871.

Ishida, T.A., Nara, K., Hogetsu, T., 2007. Host effects on ectomycorrhizal fungal communities: insight from eight host species in mixed conifer?broadleaf forests. *New Phytologist* 174, 430–440.

Jarvis, S., Woodward, S., Alexander, I.J., Taylor, A.F.S., 2013. Regional scale gradients of climate and nitrogen deposition drive variation in ectomycorrhizal fungal communities associated with native Scots pine. *Global Change Biology* 19, 1688–1696.

Jarvis, S.G., Woodward, S., Taylor, A.F.S., 2015. Strong altitudinal partitioning in the distributions of ectomycorrhizal fungi along a short (300 m) elevation gradient. *New Phytologist*

Kernaghan, G., Harper, K.A., 2001. Community structure of ectomycorrhizal fungi across an alpine/subalpine ecotone. *Ecography* 24, 181–188.

Kõljalg, U., Nilsson, R.H., Abarenkov, K., Tedersoo, L., Taylor, A.F., Bahram, M., et al., Larsson, K.H., 2013. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi. *Molecular Ecology*, 22, 5271–5277.

Last, F.T., Dighton, J., Mason, P.A., 1987. Successions of sheathing mycorrhizal fungi. *Trends in Ecology & Evolution* 2, 157–161.

Lindahl, B.D., Ihrmark, K., Boberg, J., Trumbore, S.E., Höglberg, P., Stenlid, J., Finlay, R.D., 2007. Spatial separation of litter decomposition and mycorrhizal nitrogen uptake in a boreal forest. *New Phytologist* 173, 611–620.

Lindahl, B.D., Nilsson, R.H., Tedersoo, L., Abarenkov, K., Carlsen, T., Kjøller, R., Kõljalg, U., Pennanen, T., Rosendahl, S., Stenlid, J., Kauserud, H., 2013. Fungal community analysis by high-throughput sequencing of amplified markers - a user's guide. *New Phytologist* 199, 288–299.

Marcon, M., 2014. Mesure de la biodiversité,

(https://www.ecofog.gf/img/pdf/mesures_de_la_biodiversite.pdf)

Massicotte, H.B., Molina, R., Tackaberry, L.E., Smith, J.E., Amaranthus, M.P., 1999. Diversity and host specificity of ectomycorrhizal fungi retrieved from three adjacent forest sites by five host species.

Canadian Journal of Botany 77, 1053–1076.

Mohan, J.E., Cowden, C.C., Baas, P., Dawadi, A., Frankson, P.T., Helmick, K., Hughes, E., Khan, S., Lang, A., Machmuller, M., Taylor, M., Witt, C.A., 2014. Mycorrhizal fungi mediation of terrestrial ecosystem responses to global change: mini-review. *Fungal Ecology* 10, 3–19.

Nara, K., 2006. Ectomycorrhizal networks and seedling establishment during early primary succession. *New Phytologist* 169, 169–178

Nara, K., Nakaya, H., Hogetsu, T., 2003. Ectomycorrhizal sporocarp succession and production during early primary succession on Mount Fuji. *New Phytologist* 158, 193–206.

Oliver, A.K., Callaham Jr., M.A., Jumpponen, A., 2015. Soil fungal communities respond compositionally to recurring frequent prescribed burning in a managed southeastern US forest ecosystem. *Forest Ecology and Management* 345, 1–9.

Pellissier, L., Niculita-Hirzel, H., Dubuis, A., Pagni, M., Guex, N., Ndiribe, C., Salamin, N., Xenarios, I., Goudet, J., Sanders, I.R., Guisan, A., 2014. Soil fungal communities of grasslands are environmentally structured at a regional scale in the Alps. *Molecular Ecology* 23, 4274–4290.

Rincón, A., Santamaría-Pérez, B., Rabasa, S.G., Coince, A., Marçais, B., Buée, M., 2015. Compartmentalized and contrasted response of ectomycorrhizal and soil fungal communities of Scots pine forests along elevation gradients in France and Spain: Fungi of Scots pine along elevation gradients. *Environmental Microbiology* 17, 3009–3024.

Rousk, J., Brookes, P.C., Baath, E., 2009. Contrasting Soil pH Effects on Fungal and Bacterial Growth Suggest Functional Redundancy in Carbon Mineralization. *Applied and Environmental Microbiology* 75, 1589–1596.

Schmidt, P.-A., Bálint, M., Greshake, B., Bandow, C., Römbke, J., Schmitt, I., 2013. Illumina metabarcoding of a soil fungal community. *Soil Biology and Biochemistry* 65, 128–132.

Schoch, C.L., Seifert, K.A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J.L., Levesque, C.A., Chen, W., Bolchacova, E., Voigt, K., Crous, P.W., others, 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109, 6241–6246.

Semenova, T.A., Morgado, L.N., Welker, J.M., Walker, M.D., Smets, E., Geml, J., 2015. Long-term experimental warming alters community composition of ascomycetes in Alaskan moist and dry arctic tundra. *Molecular Ecology* 24, 424–437.

Swaty, R.L., Gehring, C.A., Van Ert, M., Theimer, T.C., Keim, P., Whitham, T.G., 1998. Temporal variation in temperature and rainfall differentially affects ectomycorrhizal colonization at two contrasting sites. *New Phytologist* 139, 733–739.

Swaty, R.L., Deckert, R.J., Whitham, T.G., Gehring, C.A., 2004. Ectomycorrhizal abundance and community composition shifts with drought: predictions from tree rings. *Ecology* 85, 1072–1084.

Taberlet, P., Coissac, E., Pompanon, F., Brochmann, C., Willerslev, E., 2012. Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. *Molecular Ecology* 21, 2045–2050.

Taylor, A.F., 2002. Fungal diversity in ectomycorrhizal communities: sampling effort and species detection, in: *Diversity and Integration in Mycorrhizas*. Springer, pp. 19–28.

Tedersoo, L., Jairus, T., Horton, B.M., Abarenkov, K., Suvi, T., Saar, I., Kõljalg, U., 2008. Strong host preference of ectomycorrhizal fungi in a Tasmanian wet sclerophyll forest as revealed by DNA barcoding and taxon-specific primers. *New Phytologist* 180, 479–490.

Tedersoo, L., Bahram, M., Polme, S., Koljalg, U., Yorou, N.S., Wijesundera, R., Ruiz, L.V., Vasco-Palacios, A.M., Thu, P.Q., Suija, A., Smith, M.E., Sharp, C., Saluveer, E., Saitta, A., Rosas, M., Riit, T., Ratkowsky, D., Pritsch, K., Poldmaa, K., Piepenbring, M., Phosri, C., Peterson, M., Parts, K., Partel, K., Otsing, E., Nouhra, E., Njouonkou, A.L., Nilsson, R.H., Morgado, L.N., Mayor, J., May, T.W., Majuakim, L., Lodge, D.J., Lee, S.S., Larsson, K.-H., Kohout, P., Hosaka, K., Hiiesalu, I., Henkel, T.W., Harend, H., Guo, L. -d., Greslebin, A., Grelet, G., Geml, J., Gates, G., Dunstan, W., Dunk, C., Drenkhan, R., Dearnaley, J., De Kesel, A., Dang, T., Chen, X., Buegger, F., Brearley, F.Q., Bonito, G., Anslan, S., Abell, S., Abarenkov, K., 2014. Global diversity and geography of soil fungi. *Science* 346, 1256688–1256688.

Thomsen, P.F., Willerslev, E., 2015. Environmental DNA – An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological Conservation* 183, 4–18.

Toljander, J.F., Eberhardt, U., Toljander, Y.K., Paul, L.R., Taylor, A.F.S., 2006. Species composition of an ectomycorrhizal fungal community along a local nutrient gradient in a boreal forest. *New Phytologist* 170, 873–884

Twieg, B.D., Durall, D.M., Simard, S.W., 2007. Ectomycorrhizal fungal succession in mixed temperate forests. *New Phytologist* 176, 437–447.

Yarwood, S., Wick, A., Williams, M., Daniels, W.L., 2015. Parent Material and Vegetation Influence Soil Microbial Community Structure Following 30-Years of Rock Weathering and Pedogenesis. *Microb Ecol* 69, 383–394.

Xiong, J., Peng, F., Sun, H., Xue, X., Chu, H., 2014. Divergent Responses of Soil Fungi Functional Groups to Short-term Warming. *Microbial Ecology* 68, 708–715.

Zhou, D., Hyde, K.D., 2001. Host-specificity, host-exclusivity, and host-recurrence in saprobic fungi. *Mycological Research* 105, 1449–1457.

4. Article n°2: Ectomycorrhizal fungi respond differently than other soil fungi to the host tree and climatic and soil parameters

(soumis à Global Change Biology)

Emila Akroume^{1ab, 2,3}, Pierrick Royer^{1ab}, Bernd Zeller², Laurent Saint-André², Marc Buée^{1ab*}

¹ (a) INRA, UMR1136 Interactions Arbres-Microorganismes, F-54280 Champenoux, France (b) Université de Lorraine, UMR1136 Interactions Arbres-Microorganismes, F-54500 Vandoeuvre-lès-Nancy, France; ²INRA UR 1138 Biogéochimie des Ecosystèmes Forestiers, Centre INRA de Nancy, Champenoux ; ³Agroparistech, Centre de Nancy, F-54000 Nancy

Keywords: ectomycorrhizal fungi, climate change, forest, host preference, beech, oak, rainfall

Running head: Climate sensitivity of ECM fungi

*Corresponding author: Marc Buée. INRA. E-Mail: buee@nancy.inra.fr

Abstract

The diversity of microorganisms is maintained and structured by environmental factors that remain unclear, particularly for the different ecological groups of fungi. Unlike saprobes, ectomycorrhizal (ECM) fungi are intimately associated with the roots of forest trees, and these fungi promote host growth through the uptake of nutrients and water. This symbiotic relationship suggests that ECM fungi might be more sensitive to the changes in climate that affect their hosts than saprotrophic fungi. The aim of this study was to test this hypothesis and to identify the host trees and the climatic and edaphic parameters that affected fungal diversity with independent analyses of the ectomycorrhizal and the nonmycorrhizal fungi that were associated with *Fagaceae* in temperate forests. Using Illumina MiSeq technology, the different ecological groups of fungi were studied along a rainfall gradient in eleven French forests (*Fagus sylvatica* and *Quercus petraea*). The richness of both nonsymbiotic and ECM fungi primarily correlated with soil pH and carbon and calcium concentrations. However, the effect of mean annual precipitation was different for these two ecological groups of fungi. Based on nonmetric multidimensional scaling and correspondence analyses, the structures of ectomycorrhizal fungal communities, unlike the nonmycorrhizal soil fungi, were less sensitive to soil characteristics and were affected primarily by the species of the host tree and the mean annual precipitation, particularly under beech stands. The ecological responses of the ECM fungal communities were directly linked to the sensitivity of the tree hosts to climate, particularly that of *Fagus sylvatica*. With the advent of global climate change, these results confirm the necessity to develop joint ecological analyses of tree species and their ECM fungal partners.

Introduction

Fungi are belowground organisms with a wide variety of roles in forest ecosystem processes (Hoffland et al. 2004; Read et al. 2004). The decomposition and solubilisation of dead organic matter, with the recycling of resources, is a primary role of these microorganisms (Lindahl et al. 2007; Rajala *et al.*, 2012). Moreover, temperate forest trees are associated with ectomycorrhizal (ECM) fungi, which provide nutrients and water to their plant hosts in exchange for carbohydrates and, in the process, contribute also to the turnover of organic soil matter (Smith and Read, 2008; Philips et al., 2013). These symbiotic fungi are essential for the nutrition of trees and are an important component of the microbial biomass, making up to one-third of the total microbial biomass in boreal and northern temperate forests (Clemmensen et al. 2013; Terdersoo *et al.*, 2014). Notably, because the climatic parameters directly affect plant biodiversity and carbon cycle (Nadrowski *et al.*, 2010), the ectomycorrhizal community is strongly affected by the ecology of the hosts, and reciprocally, the ectomycorrhizae likely affect tree phenology or carbon allocation, particularly in response to seasonal and climatic variations (Buée et al. 2005; Courty et al., 2010). Thus, studies of the fungal diversity in forest ecosystems are required to provide baseline information on the interrelationships among organisms and to improve our understanding of the expected adaptations of forests in response to climate change.

The study of animals and plants along biogeographic gradients has long been a focus of ecological research (Gaston 2000; Hawkins et al. 2003), but in comparison with these studies that primarily examined macroorganisms, the studies on fungal communities are relatively few (Green and Bohannan, 2006). Recently, research on fungal diversity has been stimulated by the widespread use of new generation sequencing (NGS), and this new focus has included discussions on whether the processes that regulate biogeographic patterns for macroorganisms could also affect the fungi (Rousk *et al.*, 2010; Fierer *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2011). During the five last years, the richness and the species composition of fungal communities have been examined along edaphic and climatic gradients in dozens of studies (e.g., Cox *et al.*, 2010; Bahram *et al.*, 2012; Davey *et al.*, 2013; Jarvis *et al.*, 2013; Coince *et al.*, 2014; Geml *et al.*, 2014; Miyamoto *et al.*, 2014). However, when these studies report strong effects of climatic and edaphic parameters on fungal communities, no common trends are identified or the results are controversial. At regional scales, biogeographical studies demonstrate the influence of climatic factors, such as temperature, on the structure of ectomycorrhizal communities along altitudinal gradients, even when the variation in elevation is small (Barham *et al.*, 2012;

Jarvis *et al.*, 2015). Counce *et al.* (2014) report that the composition of root-associated fungal assemblages is explained equally by both soil pH and air temperature. In the Arctic tundra, increases in temperature cause significant shifts in ectomycorrhizal communities (Deslippe *et al.*, 2011). Notably, in plain ecosystems, the diversity of ectomycorrhizae is greatly affected by hydrometric factors such as soil moisture and mean precipitation, with smaller effects of temperature (Yamishita *et al.*, 2012; Jarvis *et al.*, 2013). Recently, on a global scale, the climatic factors such as the mean annual precipitation were also the best predictors of the composition of the soil fungal community, in addition to edaphic parameters such as pH and calcium concentration. Moreover, the mean annual precipitation and the distance from the equator influence the richness of the fungal community (Terdersoo *et al.*, 2014). Recently, the importance of analysing fungal metabarcoding data with consideration of the ecological guilds of the inventoried species was recognized (Counce *et al.* 2014; Rincon *et al.* 2015; Nguyen *et al.* 2015). In the same way, Treseder *et al.* (2014) reported a significant relationship between phylum age of fungi and preferred precipitation. However, in all cases, the composition of the soil fungi is correlated with the diversity of the vegetation (Zhou *et al.*, 2001; Ishida *et al.*, 2007; Buée *et al.*, 2011; Terdersoo *et al.*, 2014), which is also strongly linked with the diversity of pedo-climatic parameters (Allen *et al.*, 2010). Indeed, forest ecosystems are sensitive to climate change, such as temperature increases and hydrometric changes, and a consequent repartitioning of tree species is expected to occur (Badeau *et al.*, 2010; Thuiller *et al.*, 2008). For example, Peñuelas and Boada (2003) reported on the progressive replacement of European beech (*Fagus sylvatica*) by Holm oak (*Quercus ilex*) in the higher elevations of the Pyrenees, and other studies report that long-term drought stress reduces the growth of beech forests (Jump *et al.*, 2006).

The aim of this study was to expand responses of the trees to their associated root fungal community by assessing the impact of environmental factors on fungal communities recruited by the trees, as a unified functional entity or holobiont. Because ectomycorrhizal fungi are intimately associated with tree roots and form functional chimeric organs (ectomycorrhizas), we hypothesized that ectomycorrhizal fungi and free-living saprotrophic fungi would respond differently to host tree cover and climatic and edaphic parameters. Thus, another aim of this study was to determine the environmental and edaphic parameters that structured the ECM and nonsymbiotic fungal communities. Using an east-west rainfall gradient in French, temperate, lowland forests, we focused particularly on the ECM fungal community associated

with *Fagus sylvatica* and *Quercus petraea* because these species of Fagaceae are particularly sensitive to climate change (Jump *et al.*, 2006; Gessler *et al.*, 2006; Allen *et al.*, 2010).

Materials & Methods

Study sites and soil sampling

This study was conducted on eleven 2 ha experimental sites located in the northern half of France. Five beech stands and six oak stands were sampled during spring 2013 (Table 1). The stands were selected with a minimum of local constraints (i.e., strong slope and hydromorphic soils) and were also selected before their current annual maximum increment (CAI), 30-60 years old for beech and oak. Moreover, based on the model predictions of species repartitioning in France in the next 100 years, the selections considered the current and future distributions of species. Along an east-west rainfall gradient, the plots were established in areas in which the future repartition of species is expected to occur, according to a vulnerability gradient to climate change (Supporting Information Fig. S1). In particular, beech stands are very sensitive to climate changes (Badeau *et al.* 2010), even when the future distribution patterns of the tree species are based on applied mathematical models (Cheaib *et al.* 2012). The climatic data were extracted from the AURELHY climatic model (1 km grid) for the period 1971-2000 (Benichou & Le Breton, 1986). We focused on the mean annual temperatures (°C) and the mean annual precipitation (mm).

Forest	Code	Age	Species	Coordinates GPS		Elevation (m)	Soil pH	Annual mean temperature (°C)	Annual mean precipitations (mm)	Sampling date
				Lambert93						
				dirN	dirE					
FD Compiègne (60)	CompHET	40 yr	beech	6914427,84	695219,11	185	4,84	13,84	749,4	June 6th
FD Compiègne (60)	CompCHE	30 yr	oak	6915274,95	695540,98	180	5,17	13,93	734,5	June 5th
FD Ban d'Harol (88)	BAN	35 yr	beech	6783156,56	938890,69	350	4,70	13,43	1092,3	March 25th
FD Darney (88)	DAR	35 yr	beech	6779652,21	936520,61	500	4,55	13,31	1128,4	April 3th
FD Champenoux (54)	CHAMP	40 yr	oak	6852020,92	945689,36	280	5,11	13,68	780,9	March 19th
FD Fontainebleau (77)	FONT	40 yr	oak	6810531,06	682549,06	135	4,38	15,13	697,8	June 19th
FD Prieuré Grosbois (03)	GRO	40 yr	oak	6599998,07	698904,55	319	4,65	15,63	795,4	April 10th
FC Reichshoffen (67)	REICH	40 yr	oak	6882801,68	1041673,4	270	4,83	14,09	844,5	June 26th
Gaillefontaine (76)	GAILL	40 yr	beech	6952055,79	602895,66	290	4,12	12,98	912,9	June 18th
FD Tronçais (03)	TRON	50 yr	oak	6614238,34	678776,15	270	5,10	15,42	797,0	April 11th
FD Verrière du Grosbois (25)	VERR	55 yr	beech	6683070,99	948588,35	585	4,36	13,78	1243,5	May 14th

Table 1 Description of the eleven experimental forest sites

We sampled the top 5 cm of soil to avoid the confounding effect of depth difference in the A horizon among the eleven sites and because fungi are dominant in the L and H organic layers

in temperate forest soils (Šnajdr et al. 2008). We collected 108 soil samples per experimental site (n=1188), and the soil samples were pooled to obtain four representative, composite samples of each site (1 composite sample=27 soil cores), as previously described in Akroume (2014). The soil samples were sieved through a 4 mm mesh and dried at 30°C for 5 days before grinding. In total, 44 composite samples were used for the molecular and soil analyses. The “INRA laboratory for soils” at Arras analysed the chemical and physical parameters of the soils (Supporting Information Table S1). Phosphorus was measured by the Duchaufour & Bonneau method (1959), and exchangeable elements (Ca, K, Mg, Na, Mn, Al, and Fe) were extracted using cobaltihexammine chloride (Orsini & Rémy, 1976). Additionally, the pH-water was measured, and the CEC was estimated at soil pH after extraction with cobaltihexammine chloride. An elemental analyser determined total carbon and nitrogen concentrations (EA/NA 1110, NCS2500, Thermo Quest, Milan, Italy).

DNA extraction, ITS amplification and sequencing

The DNA extractions were conducted with a MO Bio kit (Fast DNA ® SPIN Kit for soil). The fungal Internal Transcribed Spacer 1 (ITS1) region was amplified from metagenomic DNA with the ITS1F/ITS2 primer pair (White *et al.*, 1990). The PCR mix preparation was performed in 20 µL with a final concentration of 1X enzyme buffer, 2 mM MgCl₂, 1.12 mg/mL BSA, 0.2 mM dNTP each, 0.4 µM primers, and 0.05 U/µL Taq polymerase (Sigma). A GeneAmp system 9700 was used with 50% ramp for the production of amplicons. The PCR programme was as follows: 5 min at 95°C, followed by 35 cycles of 30 sec at 95°C, of 40 sec at 53°C and of 45 sec at 72°C, and a final step of 7 min at 72°C. The PCR reactions were performed for each sample separately. For the Illumina MiSeq sequencing of the multiplexed amplicons, four independent libraries were generated, with each containing a pool of 10-12 amplicons tagged with a specific multiplexed identifier (MID). Genoscreen performed the sequencing of the libraries (Lille, France), in addition to the multiplexing and sequencing using the Illumina MiSeq technology. It generated paired-end reads of 2 x300 bp.

Bioinformatics analyses

The sequences were first demultiplexed according to the multiplex identifier (MID) using the `sffinfo` command of Mothur v.1.22.2 (Schloss *et al.*, 2009), with one mismatch per MID allowed. Fasta and quality files were converted into fastq files using the `faqual2fastq.py` script of Usearch v7.0.1001 (Edgar, 2013). After trimming (Q30), R1 and R2 pairs were merged at 100% similarity on the maximal length of overlap. After the primer sequence extraction, the

sequences shorter than 50 bp were removed. All sequences were then labelled with a sample name and were pooled.

The sequences were filtered and trimmed using the `fastq_filter` command of Usearch with the option `fastq_truncqual 30`, such that sequences with a quality score ≤ 30 were truncated at the first position. The ITS-1 region sequences were then dereplicated to remove duplicated sequences using the `derep_fulllength` command of Usearch. The dereplicated sequences were then sorted by decreasing abundance, and the singletons were discarded using the `sortbysize` command of Usearch.

Operational taxonomic units (OTUs) were generated from the abundance-sorted sequences using the `cluster_otus` command of Usearch with a 97% similarity threshold. The extracted ITS sequences (including singletons) were then mapped against the OTU representative sequences using `usearch_global` of Usearch. Based on this mapping result, a matrix containing the sequence abundances of the different OTUs in each soil sample was generated using the `uc2otutab.py` script of Usearch.

For the richness analyses, the data were subsampled for the identical number of sequences ($n=32,671$) from each soil sample using the `sub.sample` command of Mothur. This number of sequences conserved the four independent replicates for each site in the study.

The taxonomic assignation was determined for each OTU representative sequence using the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) algorithm v 2.2.23 (Altschul *et al.*, 1990) against the UNITE database release 5.0 (Kõljalg *et al.*, 2013). All assignations were determined using an e-value cutoff of $1e-5$. The MiSeq sequencing data were submitted to the Sequence Read Archive (SRA) and are available under the project number XXXXX.

Statistical analyses

All analyses were conducted in the R statistical software package using the MASS and Vegan R packages (Oksanen *et al.*, 2013). The fungal richness was estimated from the number of molecular operational taxonomic units (MOTUs). The number of MOTUs was calculated from a subsampled data set in which each sample had a total of 34,401 reads. The MOTUs were considered significant when the number of reads exceeded 10 reads in all samples ($n=44$). The fungal richness was estimated from the number of MOTUs, as a proxy of richness, and was correlated with edaphic and climatic parameters in linear regressions using the `lm` function in R.

The community structure was treated with nonmetric multidimensional scaling (NMDS) on a binary presence/absence data set. The NMDS was performed with the isoMDS function from the MASS package, using Bray-Curtis distances that accounted for the Sorensen dissimilarity index (vegdist function in the R vegan package). A correspondent analysis (CoA), applied to the identical data set, produced a hierarchical order for the environmental variables according to the part of inertia of each axis. The correspondent analysis was performed with the *dudi.coa* function (ade4 package in R). The coupling of both analyses was useful in identifying the parameters that structured the soil fungal communities and in determining their relative importance.

The correlations between the environmental variables and the NMDS results were calculated with the *envfit* function (vegan package), and the significance was assessed with 999 permutations. A principal component analysis (PCA), performed with the *dudi.pca* function (ade4 R package), and a correlation matrix restrained our analyses to the environmental variables that were not correlated or redundant. In particular, for the concentrations of metallic elements in soil, only the CEC and the concentrations of aluminium remained in the data set.

Results

Fungal richness of ectomycorrhizal and other ecological guilds

From the eleven forest sites, a total of 3933 MOTUs were recorded. Basidiomycota represented approximately 26% of the MOTUs, Ascomycota 44%, Zygomycota 6.8%, other phyla 3.6%, and 19.6% of these MOTUs were not taxonomically assigned or were unknown. The phyla of Glomeromycota and Chytridiomycota were poorly represented because the ITS1F/ITS2 primer pair targeted the Dikarya subkingdom. Within the 50 most abundant MOTUs, almost half of the MOTUs were in the order Mortierellales, which are very common saprotrophic fungi that feed on decaying leaves and other organic material. Based on the literature (Rinaldi et al. 2008; Tedersoo et al. 2010; Tedersoo et al. 2014), the ecological traits were identified at the level of genus. Although only 39% of the MOTUs were assigned at the genus level (Table 2), more than 75% of these were classified in ecological guilds, including the ectomycorrhizal fungi (Fig. 1). The proportions of saprotrophic and ectomycorrhizal fungi were relatively similar and were the major ecological guilds in these forest ecosystems. A proxy of the average richness of ECM fungi was estimated from this classification of the

MOTUs (Table 2). The proportion of ECM fungi differed among the sites (Table 2) and was between 20% and 40% of the MOTUs assigned at the genus level.

The richness of all fungi was significantly correlated with some soil and climate characteristics of the studied sites, including the soil pH (Fig. 2). Indeed, the fungal richness, including all ecological categories, was positively correlated with the soil pH ($r^2=0.333$, p -value=0.036). More surprisingly, the fungal richness decreased significantly with a decrease in mean annual precipitation ($r^2=0.322$, p -value=0.034); however, when both fungal categories were analysed independently, this relationship was confirmed only for the non-ECM fungi (Table 3). Indeed, in this study, the richness of the ECM fungal community was not affected by mean annual precipitation. Focusing on the ECM genera, we confirmed a positive correlation between the fungal richness and soil pH ($r^2=0.621$, p -value=0.0024). Additionally, in the topsoil, the fungal richness was higher in oak sites than that in beech sites, but this trend was not significant (p -value=0.07).

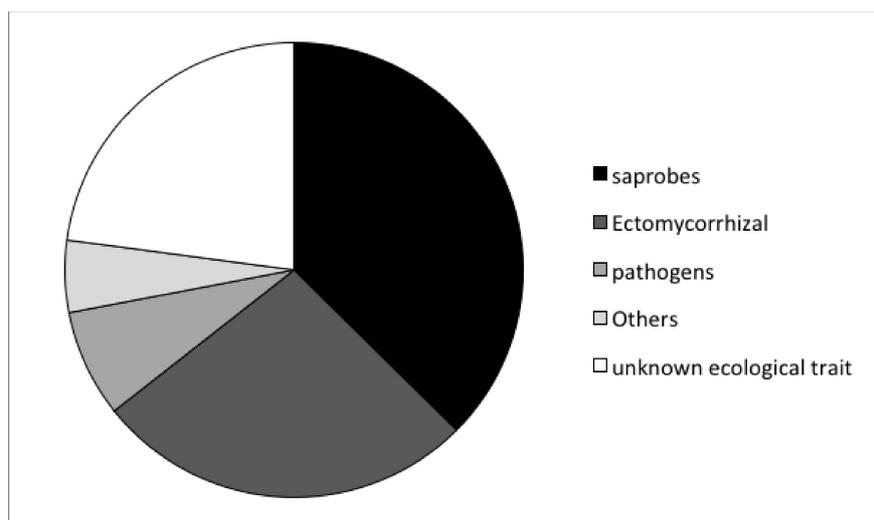


Figure 1 Proportions of ecological guilds. The identification of ecological guilds was applied with MOTUs taxonomically assigned at the genus level, thanks to the literature (Rinaldi et al. 2008; Tedersoo et al. 2010; Tedersoo et al. 2014). “Others” included minor fungal traits in this ecosystem (e.g. am fungi, endophytes, entomopathogen, lichens, mycoparasites...)

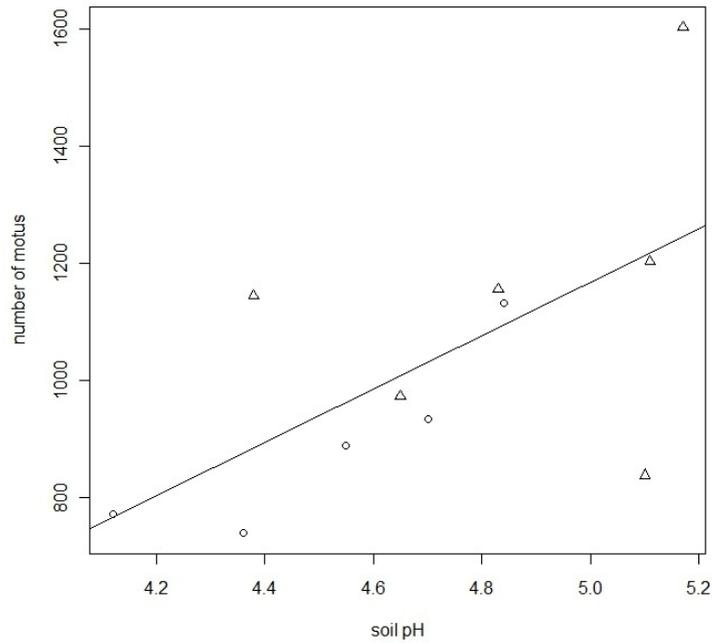


Figure 2 Linear regression between fungal richness and soil pH (filled circles= beech sites, filled triangles = oak sites)

sites	tree species	Total number of MOTUs	Number of MOTUs (with phylum assignment)	Number of MOTUs (with genus assignment only)	Number of MOTUs (genus assignment, with “Ecological guild” classification)	Percentage of ECM MOTUs (from MOTUs assigned at genus level with an “Ecological guild” classification)
All sites	Beech/oak	3933	3162	1528	1180	34,6%
Ban	beech	933	750	407	334	33%
Champ	oak	1203	971	524	426	39,7%
CompCHE	oak	1602	1315	663	493	29,6%
CompHET	beech	1132	930	453	354	28%
Dar	beech	889	719	386	314	29%
Font	oak	1144	940	441	349	20,3%
Gaill	beech	772	617	314	252	21%
Gro	oak	973	808	413	329	26,7%
Reich	oak	1155	952	510	401	32,2%
Tron	oak	838	670	371	300	28,3%
Verr	beech	739	587	319	259	23,5%

Table 2 Numbers of MOTUs for all fungi and proportion of ectomycorrhizal fungi in each experimental site, estimated from the MOTUs assigned at the genus level with an “ecological guild” classification (from Tedersoo et al. 2014).

	All soil fungal MOTUs		ECM MOTUs		non-ECM MOTUs	
	r ²	p-value	r ²	p-value	r ²	p-value
Soil pH	0.333	0.036	0.621	0.0024	0.226	0.079
Mean annual precipitations	0.322	0.034	<0.1	>0.1	0.336	0.034
Ca concentration	0.210	0.089	<0.1	>0.1	<0.1	>0.1
Total soil carbon	0.139	0.141	0.164	0.120	0.216	0.084
Ratio C:N	0.105	0.174	0.147	0.133	0.147	0.133
P2O5	<0.1	>0.2	<0.1	>0.1	0.207	0.090
K	<0.1	>0.2	<0.1	>0.1	0.124	0.156
Total soil nitrogen	<0.1	>0.2	<0.1	>0.1	<0.1	>0.1
Na	<0.1	>0.2	<0.1	>0.1	<0.1	>0.1
Al	<0.1	>0.2	<0.1	>0.1	<0.1	>0.1
CEC	<0.1	>0.2	<0.1	>0.1	<0.1	>0.1
Mean annual temperature	<0.1	>0.2	<0.1	>0.1	<0.1	>0.1

Table 3 Correlations between fungal richness and environmental explicative variables for all fungal MOTUs, ECM fungi and non-ECM fungi.

Structure of ectomycorrhizal fungal and other fungal communities

We analysed 3,226,299 paired sequences. After filtering by presence/absence, all fungal MOTUs were used in the structural analyses. Within the 50 most abundant MOTUs (potential generalist species), a large proportion was detected in all eleven sites, and only a few of the abundant MOTUs were identified at only one or a few sites, such as *Russula* ssp., *Cenococcum* ectomycorrhizas., *Peziza polaripapulata* and *Lasiosphaeris hispida* (data not shown). Even when specific fungal MOTUs, in particular those of the ECM fungi, showed host-specificity, there was no dichotomy according to tree host species, which were both in the *Fagaceae* (data not shown), for the total fungal assemblage. Moreover, for the MOTUs assigned at the genus level (Fig. 3), we confirmed this tendency by focusing on the non-ECM ecological guilds. The correlations obtained with the *envfit* function showed that edaphic factors primarily determined the structure of the non-ectomycorrhizal fungal communities, particularly the soil pH ($r^2=0.399$) and the concentrations of Ca ($r^2=0.36$) and K ($r^2=0.400$). The structure of the non-ectomycorrhizal fungal communities was also affected by mean annual precipitation ($r^2=0.49$); however, when oak and beech sites were analysed separately, this effect was not significant in the oak sites and was only confirmed in the beech sites (data not shown).

To focus on the ECM fungal communities, the taxonomically assigned MOTUs (genus level) were extracted from the initial data set, which represented only approximately 10% of the

total MOTUs and provided 443 “ECM MOTUs”. In contrast to the response of the non-ECM fungi, the independent analysis of the ECM ecological guild separated the ECM fungal communities according to tree host species along the first axis (Fig. 4). Moreover, the mean annual precipitation was identified as the strongest determining factor on the ECM fungal communities ($r^2=0.689$). Additionally, the soil pH and the concentration of calcium also contributed to the structuring of the ECM fungal communities, although at lower levels, $r^2=0.479$ and $r^2=0.275$, respectively (Table 4). Finally, the structure of the ECM communities was primarily shaped by the climatic characteristics associated with mean annual precipitation, whereas mean annual temperatures did not affect the structure of the ECM fungal communities. Notably, the level of significance for the effect of annual precipitation on the structure of the ECM communities was similar or higher when the ECM fungal assemblages under the oak and beech stands were analysed separately ($r^2=0.687$ and $r^2=0.866$, p -values $<1.0e-03$; data not shown). The CEC, the concentrations of metallic elements, and more generally, the soil characteristics, had less of an effect on the structure of the ECM community than when all fungal MOTUs were analysed together.

Although the NMDS analyses provided a descriptive view, these analyses did not permit a hierarchical ordering of the influence of each environmental variable on the structure of the communities. The correspondent analyses highlighted similar patterns for the entire fungal community and also for the ectomycorrhizal community. The first components of the CoA, which explained 7.6% of the structure of the non-ECM fungal communities, were linked to soil and climatic parameters at a similar level because the first axis was correlated with the soil pH ($r^2=0.237$, p -value= $9.3e-04$), Ca concentrations ($r^2=0.239$, p -value= $5.1e-04$), and mean annual precipitation ($r^2=0.256$, p -value= $3.0e-04$). The second axis was linked with the concentrations of metallic elements and the CEC. By contrast, for the ectomycorrhizal community, the annual precipitation was apparently the primary determining factor on the first component of the CoA with $r^2=0.522$ and p -value= $1.5e-08$. The first two axes explained 6.70% and 6.19% of the structure of the ECM fungal community. Based on the NMDS analyses, the soil factors affected the ectomycorrhizal community at a lower level: the calcium concentrations and the soil pH were significantly linked with the first component with $r^2=0.362$ and $r^2=0.361$, respectively. The influence of the metallic elements on the structure of the ECM community was also observed for the second component, although with a weaker effect than that for the entire fungal community.

In our experimental sites, in comparison with the non-ECM fungal assemblages, the structure of the ectomycorrhizal community was primarily determined by mean annual precipitation and was less affected by soil characteristics.

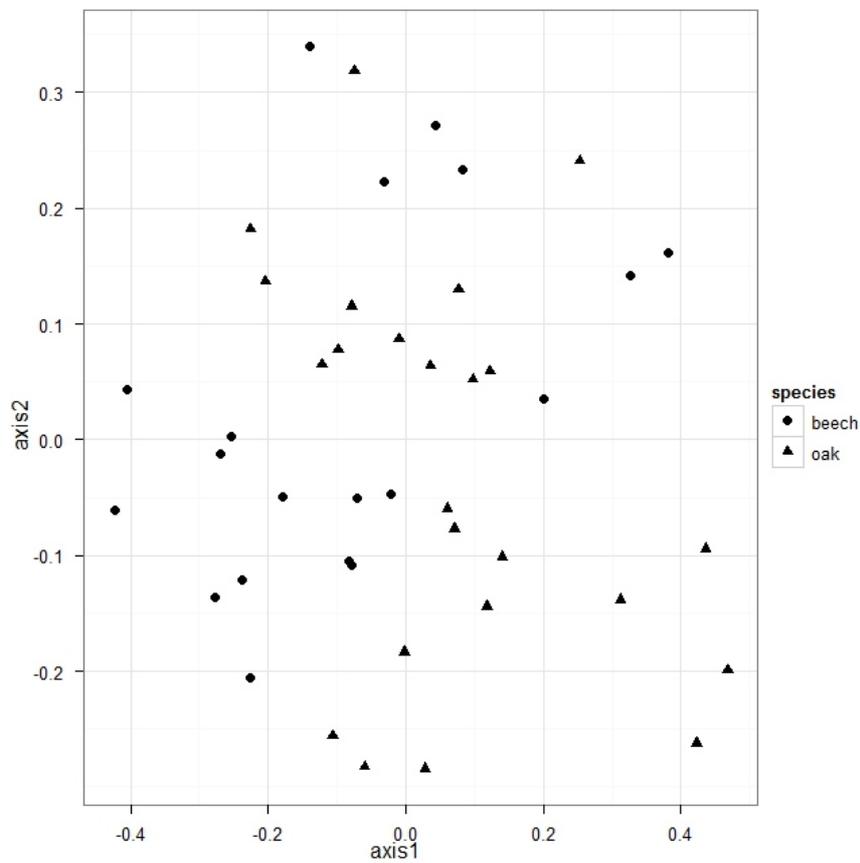


Figure 3 Nonmetric multidimensional scaling plot on non-ECM fungi communities (stress = 0.20)

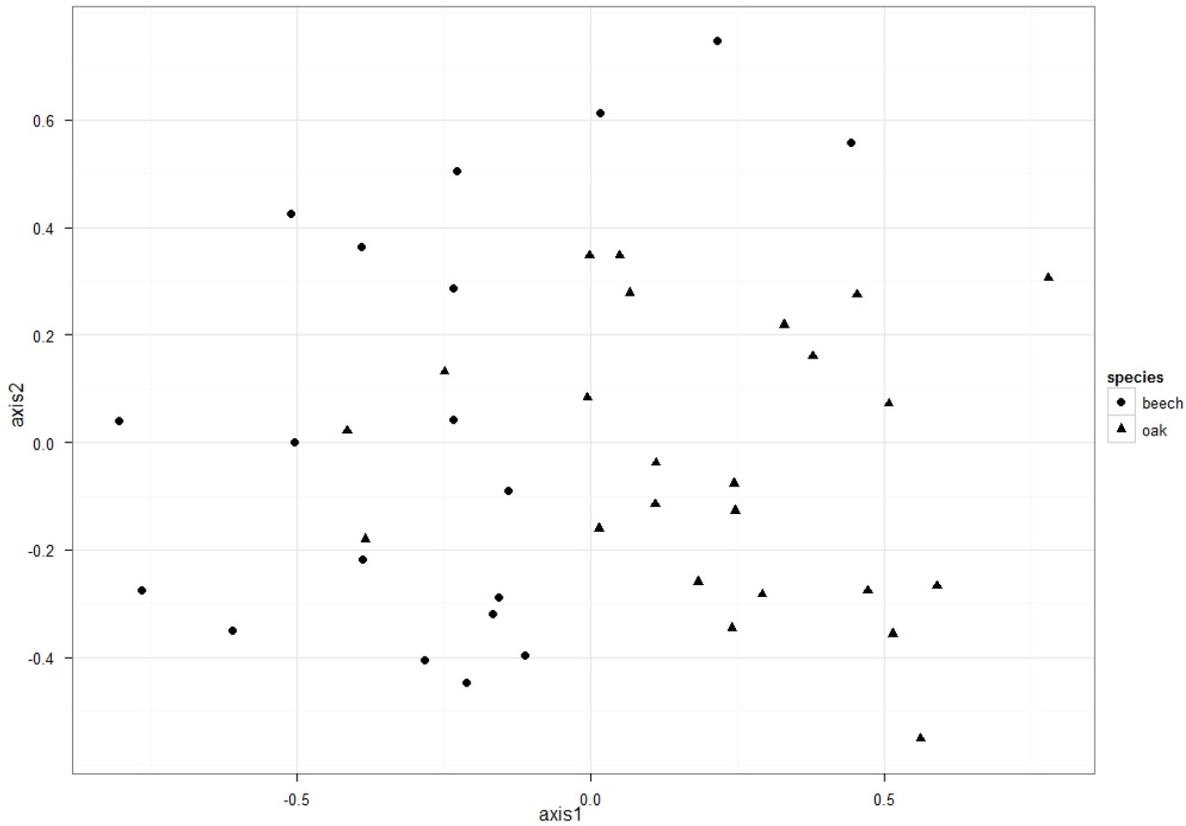


Figure 4 Nonmetric multidimensional scaling plot on ectomycorrhizal communities (stress = 0.24)

	For all soil fungi		For ECM fungi		For non-ECM fungi	
	r ²	P-value	r ²	P-value	r ²	P-value
Host species	0.320	ns	0.411	<1e-04	0.150	ns
Soil pH	0.606	<1e-04	0.479	<1e-04	0.399	<1e-04
Ca	0.341	0.001	0.275	0.003	0.336	0.002
Al	0.717	<1e-04	0.464	0.001	0.539	<1e-04
P2O5	0.272	0.002	0.157	ns	0.238	0.006
K	0.461	0.001	0.414	0.001	0.400	<1e-04
Na	0.119	ns	0.095	ns	0.059	ns
CEC	0.439	<1e-04	0.189	0.022	0.287	0.004
Mean annual temperature	0.105	ns	0.027	ns	0.099	ns
Mean annual precipitations	0.652	0.001	0.689	<1e-04	0.490	<1e-04
Total soil nitrogen	0.068	ns	0.067	ns	0.106	ns
Total soil carbon	0.226	0.008	0.206	0.009	0.245	0.002
Ratio C:N	0.293	0.004	0.259	0.002	0.250	0.007

Table 4 Correlations between NMDS results and environmental variables obtained with *envfit* function of R vegan package for the entire fungal community and for the ectomycorrhizal fungi analyzed separately

Discussion

Fungal richness of ectomycorrhizal and other ecological guilds

In our study, using an in-depth sequencing approach, we found a very high number of MOTUs in both types of forest stands. This result might be explained by the geographic dispersion of the sites and the associated diverse deterministic factors, which are proposed as regulators of fungal richness. First, we observed a strong correlation between the fungal richness and the soil pH. In previous reports, the specific microbial richness was positively correlated with soil pH (Ferris *et al.*, 2000; Tedersoo *et al.*, 2014), until the pH reached critical values at which point the relationship could be reversed (Lauber *et al.*, 2009). The strong influence of soil pH on fungal richness was also reported recently in coniferous forests with stands of *Pinus sylvestris* (Rincon *et al.*, 2015). The results of our study confirmed, at a regional scale, the recent analyses based on global data that predicted soil fungal richness from soil pH values and calcium concentrations (Tedersoo *et al.*, 2014). Notably, this positive correlation was mostly higher for the ECM fungi than that for the non-ECM fungi. Moreover, and with independent analyses, positive correlations were found between the soil pH and the richness of ectomycorrhizal fungi in the six oak sites and in the five beech sites, excluding a potential confounding factor that was linked to potential edaphic preferences of the host trees. Indeed, within our experimental design, even when the edaphic properties of the beech (*Fagus sylvatica*) and oak (*Quercus petraea*) stands were relatively similar in the French temperate forests, the soil pH was slightly higher in the oak sites than that in the beech sites.

Additionally, although this tendency was not statistically significant, the number of fungal MOTUs was significantly higher in the oak sites than that in the beech sites. When the soil pH was not directly involved, this difference could be explained by other parameters such as the abundance of fine roots. Indeed, Büttner and Leuschner (1994) investigated the spatial distribution of beech (*Fagus sylvatica*) and oak (*Quercus petraea*) fine root density and abundance and found that the fine roots of oak were more abundant in the topsoil, whereas the beech fine roots were distributed somewhat in the deeper horizons. This result demonstrates that the vertical distribution of fine roots is species-dependent. Because microbial diversity is strongly linked to the properties of the rhizosphere, the richness of fungal communities should be positively correlated with fine root density and abundance (Coince, 2013; Philippot *et al.*, 2013). Therefore, the distribution of root tips in the topsoil of our study sites might partially explain the higher number of fungal MOTUs found in the oak sites than that found in the beech stands. The variable vertical distribution of fine roots, coupled with the vertical

stratification of the fungal community in different soil horizons (Lindahl *et al.*, 2007; Coince *et al.*, 2013), demonstrates the constraints in the sampling of forest fungal communities on large geographic gradients and might partially explain some of the contradictory results.

Although Jarvis *et al.* (2013) found no relationships between ECM fungal species richness and environmental variables, we found that fungal richness decreased with mean annual precipitation. Nevertheless, when the oak and beech fungal communities were analysed separately, this relationship was not significant, which suggested that other parameters might confound first interpretations, including host tree species with different ecological requirements for the availability of water (Piedallu *et al.*, 2009). Moreover, this relationship was not identified for the ECM fungi and was valid only for the non-ECM fungi. However, Bahram *et al.* (2012) reported a decline in the richness of ectomycorrhizal fungal communities with increasing altitude in Iranian forests with a high diversity of tree species (approximately ten species), which indicated that mean annual temperatures and precipitation were likely the primary determinants of the ECM fungal diversity. By contrast, Hawkes *et al.* (2011) demonstrated that fungal communities with low rainfall were more diverse and abundant and were also more similar and stable through time, whereas increased rainfall led to less diverse and less abundant fungal communities. Finally, the absence of convergent results suggested that, on regional scales, the fungal richness in soils was not determined by climatic variables such as the mean annual precipitation, particularly in pure forest stands and that the patterns of fungal richness showed no consistency with the general altitudinal/latitudinal patterns of richness for macroorganisms (Jarvis *et al.* 2013; Coince *et al.* 2014; Rincon *et al.* 2015).

Structure of ectomycorrhizal fungal and other fungal communities

In our study, the composition of all fungal species in the eleven forest sites was not structured by tree species; however, the fungal species composition of the ectomycorrhizal fungal assemblage was significantly affected by the species of the host tree. Because the ECM fungi establish a biotrophic interaction with their host plants, the host preference should be more important than that for the nonmycorrhizal fungi, although oak and beech are in the identical taxonomic family. Moreover, among the 15 most abundant fungal species inventoried in our study (combined for 82% of the reads), more than 50% were in the nonmycorrhizal genus *Mortierella*, which is a ubiquitous group that is frequently isolated from soils (Buée *et al.*, 2009; Nagy *et al.* 2011). Furthermore, species of *Mortierella* are widespread in temperate ecosystems in which they are almost cosmopolitan with regard to several ecological factors and occur in a wide range of habitats (Nagy *et al.* 2011). For ectomycorrhizal fungi, with

comparisons of the species composition among host species within the identical environmental conditions, information is provided on the effects of host species on the ECM community and confirms that host specificity affects the structure of fungal communities (Ishida *et al.*, 2007; Tedersoo *et al.*, 2012; Buée *et al.* 2011). In our study, the tree species *Fagus sylvatica* and *Quercus petraea* were both members of the *Fagaceae* with similar ecologies, but we observed a separation of ECM fungi by host species. In addition to this influence of the host, we showed that edaphic and climatic factors did not affect similarly the ectomycorrhizal fungi and the other soil fungi. As recently reported by Tedersoo *et al.* (2014), the edaphic factors such as the pH, Ca and CEC are the primary determinants of the structure of the soil fungal community. Additionally, microbial communities, in particular fungi, regularly exhibit high sensitivity to concentrations of metallic elements (Stefanowicz *et al.*, 2008); the ECM fungi have different levels of tolerance to the concentrations of the metals Al and Pb *in vitro*, which reduce the growth of mycelia (Marschner *et al.*, 1999). However, in our study, the metallic elements had less apparent influence on the ECM fungal diversity compared with the diversity of other fungi. Indeed, we showed clearly that the ectomycorrhizal communities were structured more by mean annual precipitation than by soil characteristics, such as pH, CEC or Ca concentrations. The significant effect of rainfall on the ECM fungi communities, which was observed in the temperate forests of this study, was also recently implicated as a determinant of regional patterns of ectomycorrhizal diversity in *Pinaceae* forests (Jarvis *et al.* 2013; Rincon *et al.* 2015). Moreover, one of the ectomycorrhizal species that contributed the most to the first component of the correspondent analysis was in the genus *Piloderma*, which Jarvis and colleagues (2013) reported as a taxon sensitive to high precipitation. However, a correlation between *C. geophilum* and climatic parameters was not found, although this species is an ECM fungal indicator of drying soils (Pigott, 1982; Jany *et al.* 2003; Querejeta *et al.* 2009). Indeed, within the range of mean precipitation of our experimental design and because sampling was programmed during a rainy spring, a hydric deficit or soil drought conditions did not occur. Although ECM fungi transport water from large soil volumes and supplement the water supply of the plant host, this aspect of ECM function has been largely neglected and more studies that compare the different ECM types, particularly in the context of climate change, are required (Courty *et al.* 2010). The high sensitivity of ECM communities to annual precipitation and soil moisture and their determinant role in the hydro-mineral nutrition of trees, requires taking into account the root microbiome, in particular ECM fungi (Koide *et al.* 2014), as an extended phenotype of the tree to understand and anticipate the adaptation of forest species to water stress. When the

effect of annual precipitation on the structure of the ECM communities was significant for both species of *Fagaceae*, the effect was statistically greater on the ECM fungal assemblages under beech than on those under oak. This result might be linked to the high sensitivity of beech to the availability of water and therefore may indicate the threats faced by beech stands with climate changes expected to increase temperatures and the intensity and frequency of droughts during the summer (Gessler *et al.*, 2006; Cheiab *et al.* 2012). Finally, with the structure of ectomycorrhizal communities determined by mean annual rainfall, the high sensitivity of the ECM fungi indicates a risk from climate change in France. In France, the climate models predict important shifts in rainfall gradients and water availability, which is expected to cause a migration of species to altitudes and to the northern/eastern regions; in particular, *Fagus sylvatica* is predicted to be threatened by hydric deficits in the western lowlands from 2050 to 2100 (Badeau *et al.*, 2010; Piedallu *et al.*, 2009). In the long-term, climate change could lead to a co-migration of symbiotic fungi and tree host species, as was shown in the comigration and coevolution of *Tuber melanosporum* and its tree host after the most recent glaciations (Murat *et al.*, 2004).

In conclusion, compared with the non-ECM fungal communities, the ECM fungal communities were significantly more sensitive to the host tree species and to annual rainfall. These results illustrate the potential risks for climate change to cause shifts within the ectomycorrhizal fungal communities on regional scales with consequent effects on the forest tree community. Further research is required to understand the joint responses of the host trees and the ECM fungi to climatic variables, particularly in the regions in which some relevant tree species are expected to be compromised in future years. Moreover, some ectomycorrhizal fungi might be identified as early warning indices of climatic perturbations or tipping points, when monitored as traits that predict species responses across ecosystems.

Acknowledgements

We thank the ONF-RDI (N. Pousse and C. Richter) and acknowledge the support of the different foresters (H. Juif, M. Leblanc, P. Debailleuil, C. Aubailly, E. Keiser, E. Vial, T. De Ferrières, A. Guillon, and B. Liniger). We are grateful to L. Buissonnier (Domaine de Gaillefontaine) for his support of our research at Gaillefontaine and to the private owners for their collaboration and their permission for the soil samplings in these eleven forest stands. We also thank C. Bach, S. Bienaimé, N. Cichocki, C. Dubreil, C. Gehin, K. Hansson, M. C. Maintenant, J. Michel, B. Pollier, L. Ropinsky, and J. Saint-Marie, who participated in the sampling campaigns and in the preparation of the samples. We are grateful to Emmanuelle

Morin for assistance with the bioinformatics analyses and to Benoit Marçais and Philippe Santenoise for their statistical advice.

A grant overseen by the French National Research Agency (ANR) as part of the "Investissements d'Avenir" programme (ANR-11-LABX-0002-01, Lab of Excellence ARBRE) supported this work. EA's Ph.D. was funded by the Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt.

References

Akroume, E (2014) Impact of intensive residue removal on the fertility of forest soils and on their biodiversity. *Revue forestière française* LXVI, 4-2014.

Allen CD, Macalady AK, Chenchouni H *et al.* (2010) A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *Forest Ecology and Management* 259, 660–684.

Altschul SF, GishW, MillerW, Myers EW, Lipman DJ (1990) Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*. 215, 403-410

Badeau, V, Dupouey, J L, Cluzeau, C, Drapier, J, Le Bas, C (2010) Climate change and the biogeography of French tree species: first results and perspectives. In "Forest, Carbon Cycle and Climate Change", D. Loustau (Ed.), QUAE. ISBN 978-2-7592-0384-0, 231-252.

Bahram M, Pölme S, Kõljalg U, Zarre S, Tedersoo L (2012) Regional and local patterns of ectomycorrhizal fungal diversity and community structure along an altitudinal gradient in the Hyrcanian forests of northern Iran. *New Phytologist* 193, 465–473.

Benichou P, Le Breton O (1987) Prise en compte de la topographie pour la cartographie de champs pluviométriques statistiques. *La Météorologie* 7, 19 Boulogne-Billancourt DMN pp 23–35

Buée M, Vairelles D, Garbaye J (2005) Year-round monitoring of diversity and potential metabolic activity of the ectomycorrhizal community in a beech (*Fagus sylvatica*) forest subjected to two thinning regimes. *Mycorrhiza* 15, 235-245.

Buée M, Reich M, Mura, C, Morin E, Nilsson RH, Uroz S, Martin F (2009) 454 Pyrosequencing analyses of forest soils reveal an unexpectedly high fungal diversity. *New Phytologist* 184, 449–456.

Buée M, Maurice JP, Zeller B, Andrianarisoa S, Ranger J, Courtecuisse R, Marçais B, Le Tacon F, (2011) Influence of tree species on richness and diversity of epigeous fungal communities in a French temperate forest stand. *Fungal Ecology* 4, 22–31.

Büttner V, Leuschner C (1994) Spatial and temporal patterns of fine root abundance in a mixed oak-beech forest. *Forest ecology and management*, 70, 11-21.

CheaiB, A, Badeau, V, Boe, J, Chuine, I, Delire, C, Dufrêne, E, et al., Leadley, P (2012) Climate change impacts on tree ranges: model intercomparison facilitates understanding and quantification of uncertainty. *Ecology letters*, 15, 533-544.

Clemmensen KE, Bah A, Ovaskainen O, Dahlberg A, Ekblad A, Wallander H, Lindahl, BD (2013) Roots and associated fungi drive long-term carbon sequestration in boreal forest. *Science*, 339, 1615-1618.

Coince A (2013) Richesse et diversité des assemblages de champignons et d'oomycètes de hêtraies, en relation avec des facteurs climatiques et édaphiques : de la parcelle au continent (Thèse de doctorat, Université de Lorraine, FRA).

Coince A, Caël O, Bach C, Lengelle, J, Cruaud, C, Gavory, F, Marcais B, Buée M (2013) Below-ground fine-scale distribution and soil versus fine root detection of fungal and soil oomycete communities in a French beech forest. *Fungal Ecology* 6, 223–235.

Coince A, Cordier T, Lengellé J, Defosse E, Vacher C, Robin C, Buée M, Marcais B (2014) Leaf and root-associated fungal assemblages do not follow similar elevational diversity patterns. *PloS one*, 9(6), e100668.

Courty PE, Buée M, Diedhiou AG *et al.* (2010) The role of ectomycorrhizal communities in forest ecosystem processes: New perspectives and emerging concepts. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 679–698.

Cox MP, Eaton, CJ, Scott DB (2010) Exploring molecular signaling in plant-fungal symbioses using high throughput RNA sequencing. *Plant Signaling & Behavior* 5, 1353–1358.

Davey ML, Heegaard E, Halvorsen R, Kausrud H, Ohlson M (2013) Amplicon-pyrosequencing-based detection of compositional shifts in bryophyte-associated fungal communities along an elevation gradient. *Molecular Ecology* 22, 368–383.

Deslippe JR, Hartmann M, Mohn WW, Simard SW (2011) Long-term experimental manipulation of climate alters the ectomycorrhizal community of *Betula nana* in Arctic tundra: Climate Change alters ectomycorrhizal fungi. *Global Change Biology* 17, 1625–1636.

Duchaufour P, Bonneau M (1959) Une nouvelle méthode de dosage du phosphore assimilable dans les sols forestiers. *Bulletin de l'AFES* 4, 193–198

Edgar RC (2010) Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, 26, 2460–2461.

Ferris R, Peace AJ, Newton AC (2000) Macrofungal communities of lowland Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) and Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karsten.) plantations in England: relationships with site factors and stand structure. *Forest Ecology and Management* 131, 255–267.

Fierer N, McCain CM, Meir P, Zimmermann M, Rapp JM, Silman MR, Knight R (2011) Microbes do not follow the elevational diversity patterns of plants and animals. *Ecology*, 92, 797-804.

Gaston KJ (2000) Global patterns in biodiversity. *Nature* 405: 220–227

Geml J, Pastor N, Fernandez L, Pacheco S, Semenova TA, Becerra AG, Nouhra ER (2014) Large-scale fungal diversity assessment in the Andean Yungas forests reveals strong community turnover among forest types along an altitudinal gradient. *Molecular ecology*, 23, 2452-2472.

- Gessler A, Keitel C, Kreuzwieser J, Matyssek R, Seiler W, Rennenberg H (2006) Potential risks for European beech (*Fagus sylvatica* L.) in a changing climate. *Trees* 21, 1–11.
- Green J, Bohannan BJ (2006) Spatial scaling of microbial biodiversity. *Trends in Ecology & Evolution*, 21, 501-507.
- Hawkes CV, Kivlin S N, Rocca JD, Huguet V, Thomsen MA, Suttle KB (2011) Fungal community responses to precipitation. *Global Change Biology*, 17, 1637-1645.
- Hawkins BA, Field R, Cornell HV et al. (2003) Energy, Water, and Broad-Scale Geographic Patterns of Species Richness. *Ecology*, 84, 3105–3117.
- Hoffland E, Kuyper TW, Wallander H, Plassard C, Gorbushina AA, Haselwandter K, van Breemen N (2004) The role of fungi in weathering. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2, 258-264.
- Ishida TA, Nara K, Hogetsu T (2007) Host effects on ectomycorrhizal fungal communities: insight from eight host species in mixed conifer broadleaf forests. *New Phytologist* 174, 430–440.
- Jany JL, Martin F, Garbaye J (2003) Respiration activity of ectomycorrhizas from *Cenococcum geophilum* and *Lactarius* sp. in relation to soil water potential in five beech forests. *Plant and Soil*, 255, 487-494.
- Jarvis S, Woodward S, Alexander IJ, Taylor AFS (2013) Regional scale gradients of climate and nitrogen deposition drive variation in ectomycorrhizal fungal communities associated with native Scots pine. *Global Change Biology* 19, 1688–1696.
- Jarvis SG, Woodward S, Taylor AFS (2015) Strong altitudinal partitioning in the distributions of ectomycorrhizal fungi along a short (300 m) elevation gradient. *New Phytologist* 206, 1145-1155.
- Jump AS, Hunt JM, Penuelas J (2006) Rapid climate change-related growth decline at the southern range edge of *Fagus sylvatica*. *Global Change Biology*, 12, 2163-2174.
- Koide, R T, Fernandez, C, Malcolm, G (2014) Determining place and process: functional traits of ectomycorrhizal fungi that affect both community structure and ecosystem function. *New Phytologist*, 201, 433-439.
- Kõljalg, U, Nilsson, R H, Abarenkov, K, Tedersoo, L, Taylor, A F, Bahram, M, et al., Larsson, K H (2013). Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi. *Molecular Ecology*, 22, 5271-5277.
- Lauber, C L, Hamady, M, Knight, R, Fierer, N (2009) Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Applied and environmental microbiology*, 75, 5111-5120.
- Lindahl BD, Ihrmark K, Boberg J, Trumbore SE., Höglberg P, Stenlid J, Finlay RD (2007) Spatial separation of litter decomposition and mycorrhizal nitrogen uptake in a boreal forest. *New Phytologist*, 173, 611-620.
- Marschner P, Klam A, Jentschke G, Godbold DL (1999) Aluminium and lead tolerance in ectomycorrhizal fungi. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 162, 281–286.

- Murat C, Díez, J, Luis, P, Delaruelle, C, Dupré, C, Chevalier, G, et al., Martin F (2004) Polymorphism at the ribosomal DNA ITS and its relation to postglacial re-colonization routes of the Périgord truffle *Tuber melanosporum*. *New phytologist*, 164, 401-411
- Miyamoto Y, Nakano T, Hattori M, Nara K (2014) The mid-domain effect in ectomycorrhizal fungi: range overlap along an elevation gradient on Mount Fuji, Japan. *The ISME journal*, 8, 1739-1746.
- Nadrowski K, Wirth C, Scherer-Lorenzen M (2010) Is forest diversity driving ecosystem function and service? *Current Opinion in Environmental Sustainability* 2, 75–79.
- Nagy LG, Petkovits T, Kovács GM, Voigt K, Vágvölgyi C, Papp T (2011) Where is the unseen fungal diversity hidden? A study of *Mortierella* reveals a large contribution of reference collections to the identification of fungal environmental sequences. *New Phytologist*, 191, 789-794.
- Nguyen, N H, Song, Z, Bates, S T, Branco, S, Tedersoo, L, Menke, J, Schilling J S, Kennedy, P G (2015) FUNGuild: an open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecology* (in press).
- Oksanen J, Blanchet FG, Kindt R et al. (2013) Package “vegan.” Community ecology package, version 2. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- Orsini L, Rémy JC (1976) Utilisation du chlorure de Cobaltihexammine pour la détermination simultanée de la capacité d'échange et des bases échangeables des sols. *Sciences du Sol* 4, 269–275
- Peñuelas, J, Boada, M (2003) A global change-induced biome shift in the Montseny mountains (NE Spain). *Global Change Biology*, 9, 131-140.
- Phillips LA, Ward V, Jones MD (2014) Ectomycorrhizal fungi contribute to soil organic matter cycling in sub-boreal forests. *The ISME journal* 8, 699–713.
- Philippot L, Raaijmakers JM, Lemanceau P, van der Putten WH (2013) Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 11, 789-799.
- Piedallu C, Perez V, Gégout JC, Lebourgeois F, Bertrand R, (2009) Impact potentiel du changement climatique sur la distribution de l'Épicéa, du Sapin, du Hêtre et du Chêne sessile en France. *Revue forestière française* 61, 567–593.
- Pigott CD (1982) Survival of mycorrhiza formed by *Cenococcum geophilum* Fr. in dry soils. *New Phytologist*, 92, 513-517.
- Querejeta, J, Egerton-Warburton, L. M, Allen, M F (2009) Topographic position modulates the mycorrhizal response of oak trees to interannual rainfall variability. *Ecology*, 90, 649-662.
- Rajala T, Peltoniemi M, Pennanen T, Mäkipää R (2012) Fungal community dynamics in relation to substrate quality of decaying Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) logs in boreal forests. *FEMS Microbiology Ecology* 81, 494–505.
- Read DJ, Leake JR, Perez-Moreno J (2004) Mycorrhizal fungi as drivers of ecosystem processes in heathland and boreal forest biomes. *Canadian Journal of Botany*, 82, 1243-1263.

- Rinaldi AC, Comadini O, Kuyper TW (2008) Ectomycorrhizal fungal diversity: separating the wheat from the chaff. *Fungal Diversity* 33, 1–45.
- Rincón A, Santamaría-Pérez B, Rabasa SG, Coince A, Marçais B, Buée M (2015) Compartmentalized and contrasted response of ectomycorrhizal and soil fungal communities of Scots pine forests along elevation gradients in France and Spain. *Environmental microbiology* (In press, DOI: 10.1111/1462-2920.12894).
- Rousk J, Bååth E, Brookes P, Lauber, CL, Lozupone C, Caporaso JG Fierer N (2010) Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *The ISME journal*, 4, 1340-1351.
- Schloss PD, Westcott SL, Ryabin T et al. (2009) Introducing Mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied Environmental Microbiology*, 75, 7537–7541.
- Smith SE and Read DJ (2010) *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press.
- Šnajdr, J, Valášková, V, Merhautová, V, Herinková, J, Cajthaml, T, & Baldrian, P (2008) Spatial variability of enzyme activities and microbial biomass in the upper layers of *Quercus petraea* forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 2068-2075.
- Stefanowicz AM, Niklińska M, Laskowski R (2008) Metals affect soil bacterial and fungal functional diversity differently. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27, 591–598.
- Tedersoo L, May TW, Smith ME (2010) Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza* 20, 217–263.
- Tedersoo L, Bahram M, Toots M et al. (2012) Towards global patterns in the diversity and community structure of ectomycorrhizal fungi. *Molecular Ecology*, 21, 4160-4170.
- Tedersoo L, Bahram M, Polme S et al. (2014) Global diversity and geography of soil fungi. *Science* 346, 6213.
- Thuiller W, Albert C, Araújo MB et al. (2008) Predicting global change impacts on plant species' distributions: Future challenges. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 9, 137–152.
- Treseder, K K, Maltz, M R, Hawkins, B A, Fierer, N, Stajich, J E, & McGuire, K L (2014) Evolutionary histories of soil fungi are reflected in their large-scale biogeography. *Ecology letters*, 17, 1086-1093.
- Wang J, Soininen J, Zhang Y, Wang B, Yang X, Shen J (2011) Contrasting patterns in elevational diversity between microorganisms and macroorganisms. *Journal of Biogeography*, 38(3), 595-603.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In *PCR Protocols: A guide to Methods and Applications* (ed. M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky & T. J. White), pp. 315±322. Academic Press : San Diego, U.S.A.
- Yamashita S, Hirose D, Nakashizuka T (2012) Effects of rainfall exclusion on the ectomycorrhizal fungi of a canopy tree in a tropical rainforest. *Journal of Tropical Forest Science* 24, 322–331.

Zhou D, Hyde KD (2001) Host-specificity, host-exclusivity, and host-recurrence in saprobic fungi. *Mycological Research* 105, 1449–1457.

Supplemental data

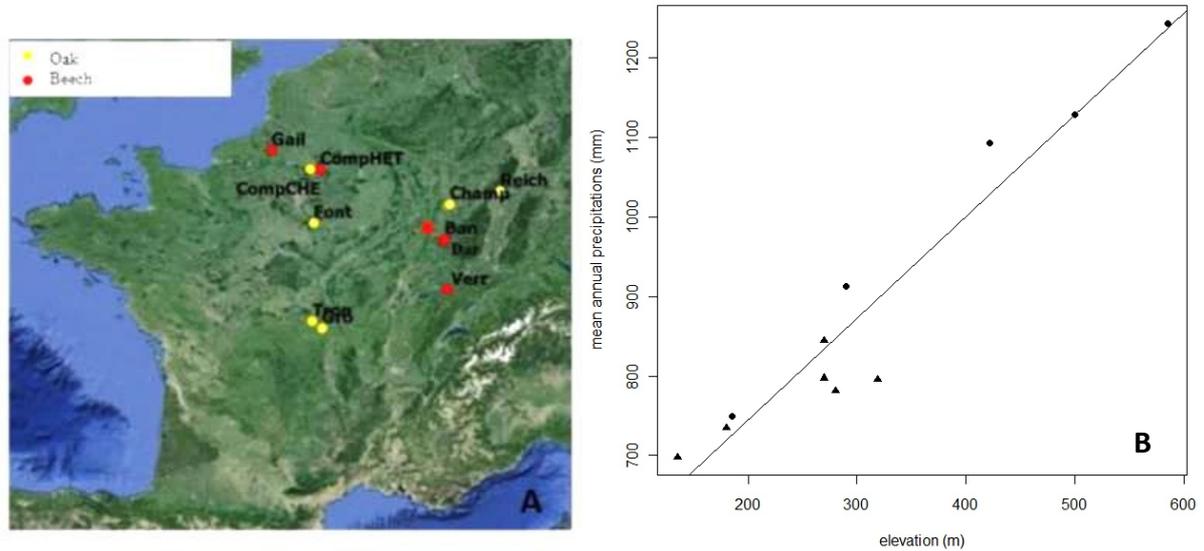


Figure S1. Locations of forest sites (A) and correlation between elevation and mean annual precipitations (B) of these eleven selected sites ($r^2= 0.916$, $pval= 2.3e-06$) of beech (circles) and oak (triangles)

mean (sd)														
site	species	pH_water	CEC (cmol+/kg)	Ca (g/100g)	Al (g/100g)	Fe (g/100g)	K (g/100g)	Mg (g/100g)	Mn (mg/kg)	Na (g/100g)	P2O5 (g/100g)	N (g/100g)	C (g/100g)	C/N
BAN	beech	4,7 (0,01)	4,92 (0,3)	0,05 (0)	5,17 (0,17)	2,28 (0,11)	2,49 (0,07)	0,3 0(0,02)	806 (125,4)	0,23 (0,01)	0,08 (0)	0,19 (0,02)	3,34 (0,29)	17,34 (0,16)
COMP-HET	beech	4,84 (0,17)	3,55 (0,63)	0,15 (0,01)	1,69 (0,06)	0,87 (0,06)	0,71 (0,01)	0,10 (0,01)	313,5 (21,49)	0,29 (0,01)	0,06 (0)	0,19 (0,02)	2,77 (0,14)	14,93 (0,48)
DAR	beech	4,55 (0,01)	4,83 (0,16)	0,05 (0,01)	4,78 (0,07)	1,69 (0,04)	2,56 (0,11)	0,25 (0)	389 (47,41)	0,18 (0,02)	0,08 (0)	0,19 (0,01)	3,07 (0,34)	16,05 (0,82)
GAILL	beech	4,12 (0,03)	6,3 (0,28)	0,17 (0,01)	3,75 (0,09)	1,84 (0,06)	1,36 (0,04)	0,23 (0,01)	576,5 (44,98)	0,55 (0,03)	0,13 (0,01)	0,37 (0,02)	5,38 (0,26)	14,65 (0,4)
VERR	beech	4,36 (0,06)	5,55 (1,08)	0,09 (0,01)	3,44 (0,23)	2,61 (0,28)	0,92 (0,06)	0,24 (0,02)	1112,25 (172,22)	0,22 (0,02)	0,11 (0,01)	0,3 (0,03)	5,48 (0,52)	18,08 (0,24)
CHAMP	oak	5,11 (0,09)	10,73 (0,36)	0,15 (0,02)	7,47 (0,16)	4,53 (0,18)	1,66 (0,01)	0,52 (0,03)	2005 (237,28)	0,52 (0,03)	0,14 (0,01)	0,29 (0,01)	4,01 (0,15)	13,61 (0,13)
COMP-CHE	oak	5,17 (0,14)	3,86 (0,56)	0,16 (0,02)	1,66 (0,06)	0,82 (0,03)	0,77 (0,04)	0,10 (0)	205 (26,24)	0,28 (0,02)	0,05 (0)	0,17 (0,01)	2,51 (0,19)	14,81 (0,65)
FONT	oak	4,38 (0,09)	1,64 (0,29)	0,08 (0,02)	0,93 (0,02)	0,32 (0,02)	0,6 (0,01)	0,03 (0)	154,75 (22,25)	0,14 (0)	0,04 (0)	0,21 (0,01)	3,78 (0,14)	17,74 (0,29)
GRO	oak	4,65 (0,13)	3,08 (0,58)	0,05 (0,01)	2,67 (0,17)	0,74 (0,1)	1,11 (0,04)	0,09 (0,01)	873,25 (61,16)	0,13 (0,01)	0,06 (0)	0,23 (0,01)	3,91 (0,23)	17,35 (0,23)
REICH	oak	4,83 (0,05)	4,41 (0,29)	0,2 (0,01)	3,63 (0,09)	1,52 (0,05)	1,41 (0,02)	0,23 (0,01)	824,25 (93,73)	0,71 (0,02)	0,07 (0)	0,17 (0,01)	2,92 (0,24)	17,39 (0,21)
TRON	oak	5,1 (0,08)	1,98 (0,19)	0,04 (0)	2,9 (0,2)	0,81 (0,06)	2,11 (0,15)	0,08 (0,01)	2050 (108,93)	0,17 (0,02)	0,07 (0)	0,13 (0,01)	2,44 (0,21)	18,75 (1,53)

Table S2: Soil properties for the 11 experimental sites for the 0-5 cm layer. The values into bracket correspond to standard deviations.

CHAPITRE IV

Identification des indicateurs fonctionnels des impacts des manipulations de matières organiques à très court terme sur les sols forestiers

La prospection et la caractérisation détaillée de l'état initial des sites MOS ont permis d'amorcer les chantiers de mise en place des traitements à partir de l'automne 2013-2014. La campagne de prélèvements T+1 correspond à un recul d'environ une année après manipulation des litières et des rémanents. Cette phase d'échantillonnage est une étape cruciale pour détecter les effets les plus immédiats des manipulations de matières organiques, notamment pour identifier s'il existe de potentiels indicateurs de perturbations précoces dans le fonctionnement des sols. L'objectif est de déterminer quelles composantes de la fertilité (chimique et biologique) seraient susceptibles de répondre en premier aux exportations de biomasse, afin de suivre l'évolution de ces indicateurs et d'être en mesure d'anticiper les évolutions de ces impacts sur l'écosystème.

En tant qu'outil efficace et intégratif des propriétés des sols, la spectrométrie infrarouge permet une « prospection » des effets de la manipulation de la matière organique après un an en détectant les plages de fréquences d'onde impactées. L'aspect fonctionnel est abordé sur deux niveaux : la dynamique de l'azote dans les horizons organiques et minéraux, et une approche de la diversité fonctionnelle par six tests enzymatiques axés sur les métabolismes de l'azote, du carbone et du phosphore.

1. Estimation des prélèvements de biomasse et de minéralomasse sur les sites expérimentaux MOS

1.1 Mise en place des traitements *in situ*

Après le tirage aléatoire de la disposition des placeaux traitements (codés arbitrairement 1-2-3-4) croisés avec les données spectrales et dendrométriques, les traitements sont affectés à un code donné en tenant compte des réalités du terrain pour chacun des sites expérimentaux.

Les travaux d'exportation des rémanents et des litières ont débuté à l'automne 2013 (sur le site de Champenoux) et se sont échelonnés selon les calendriers d'exploitation sylvicole et la disponibilité des équipes sur les différents sites du réseau. A ce jour, du fait de l'ampleur des travaux à mettre en œuvre sur le terrain (environ 70 hommes jours par site, et environ 15 hommes jours pour le retrait annuel des litières), les retraits et quantifications de biomasse, pour ce travail de thèse, n'ont été complètement réalisés que sur sept sites MOS : trois sites chênes et quatre sites hêtres.

Les menus-bois et houppiers non exploités sont évacués hors des placeaux à modalité *sans rémanent* et *sol nu* sous forme de fagots le long des cloisonnements. En contraste, sur les

placeaux *témoins*, les houppiers sont étalés au sol après la coupe. Les retraits de litière sont effectués après l'évacuation des fagots, en soufflant les feuilles de façon à les entasser sur les cloisonnements pour faciliter leur sortie des placeaux. L'utilisation de souffleuses à feuilles permet d'éviter un décapage violent des racines fines superficielles et une altération conséquente de l'horizon organique comme pourrait le provoquer l'emploi de râtaux ou d'une herse. Les fagots et les litières sont évacués hors du dispositif au fur et à mesure par un quad léger afin de minimiser les impacts de tassement.

Les retraits de litières seront répétés tous les ans après la chute des feuilles et l'exportation des menus-bois aura lieu après chaque éclaircie sur les placeaux concernés.



Figure IV.1 : Exemple d'un placeau témoin pour lequel les houppiers sont laissés au sol (à gauche, site de Reichshoffen) et d'un placeau pour lequel ils ont été récoltés et exportés sous forme de fagots (à droite, site de Compiègne chêne)



Figure IV.2 : Exemple de placeaux de modalité « sol nu » sur les sites de Champenoux (à gauche) de Compiègne chêne (à droite)

1.2 Quantification de biomasse de litière et de rémanents prélevée

1.2.1 Estimation de la quantité de litière par placeau

Les quantités de litières exportées sont évaluées sur chacun des trois placeaux *sol nu* avant le soufflage des feuilles. La quantité totale de litière est pesée sur une surface de 1 m², à raison de 9 points par placeau, de façon à quadriller le placeau de manière homogène. On obtient alors une estimation de la quantité de litière humide pour chaque placeau.

Parallèlement, six échantillons de litière sont prélevés sur le site (2 échantillons par placeau) et pesés à l'état humide. Ces échantillons sont mis à sécher à l'étuve à 35°C jusqu'à stabilisation du poids pour obtenir le taux d'humidité moyen des litières. Ce taux d'humidité est ensuite appliqué aux poids humides de litières quantifiés à l'échelle du placeau pour obtenir la masse sèche de litière exportée.

site	essence	masse sèche (kg/m ²) ^a	masse sèche (t/ha) ^b
Compiègne CHE	Chêne	0.49 (0.08)	4.89 (0.76)
Champenoux	Chêne	0.59 (0.14)	5.50 (0.13)
Reichshoffen	Chêne	0.65 (0.12)	6.49 (1.22)
Compiègne HET	Hêtre	0.44 (0.12)	4.37 (0.70)
Ban d'Harol	Hêtre	0.66 (0.10)	6.61
Verrières	Hêtre	0.74 (0.16)	7.45
Darney	Hêtre	1.24 (0.24)	12.41 (2.36)

Table IV.1 : Masse moyenne de litière sèche exprimée en kg par m² et en tonnes par hectare. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écart-types calculés au sein de chaque placeau (a) et aux écart-types calculés pour les trois placeaux (b). Pour les sites de Ban d'Harol et de Verrières, les litières ont été pesées sur un seul placeau.

Les quantités de litière sont exprimées en kg par m² puis en tonnes par placeau, extrapolation qui considère néanmoins une répartition homogène des quantités de litière sur le placeau. Elles s'échelonnent entre 0.7 t/placeau et 2 t/placeau. Bien que les sites hêtres présentent une litière plus abondante, les différences de quantités entre les deux essences ne sont pas significatives. Les variations de masses de litières sont plus importantes intrasite.

1.2.2 Estimation de la quantité de menus-bois par placeau

Les fagots, placés en bordure de chaque placeau, sont pesés sur le terrain (poids humide) à l'aide d'une balance associée à une pelleteuse (figure IV.1). La somme de tous les fagots fournit la donnée mesurée à l'échelle du placeau, extensible à l'hectare. De même que pour les litières, le taux d'humidité est estimé à partir d'échantillon de branches prélevées sur les fagots (deux par placeau).



Figure IV.3 : Pesée des fagots in situ à l'aide d'une balance (à droite) suspendues à un bras de pelleteuse (B.Zeller)

site	essence	masse sèche (t/ha)
Compiègne CHE	Chêne	-
Champenoux	Chêne	10.94 (1.11)
Reichshoffen	Chêne	15.21 (4.98)
Verrières	Hêtre	4.72 (3.69)
Compiègne HET	Hêtre	9.67 (0.76)
Darney	Hêtre	14.24 (7.45)
Ban d'Harol	Hêtre	20.24 (4.16)

Table IV.2 : Masse moyenne de menus-bois secs (t) prélevée par placeau de 1600m² et à l'hectare

Les quantités de biomasse exportées sont assez variables d'un site à l'autre, en corrélation avec la densité de tiges initiale, l'âge du peuplement et l'intensité de l'éclaircie.

1.3 Estimation de la minéralomasse et de la quantité de nutriments exportés

1.3.1 Estimation des quantités de carbone et d'azote exportées par le prélèvement des litières

Les concentrations en carbone et en azote ont été mesurées dans les litières de chaque site pour la phase de description initiale (cf. chapitre 1). Ce sont celles utilisées pour estimer les quantités d'azote et de carbone qui ont été exportées, en les rapportant aux masses sèches de litières qui ont été récoltées lors de la mise en place des traitements. Les quantités d'azote exportées sont les plus faibles pour les deux sites de Compiègne, et les plus importantes sur le site de Darney, proportionnellement aux masses de litières prélevées. Les masses de carbone exporté sont plus limitées pour les sites de Compiègne Hêtre et de Champenoux et les plus conséquentes sur le site de Darney.

site	essence	% N litière	% C litière	masse sèche (t/ha)	N exporté kg/ha	C exporté kg/ha
Ban d'Harol	Hêtre	1.32 (0.09)	39.53 (1.05)	6.61	87.62	2613.9
Champenoux	Chêne	1.37 (0.21)	33.34 (5.39)	5.50 (0.13)	75.24 (13.29)	1835.5 (331.5)
Compiègne CHE	Chêne	1.43 (0.004)	42.81 (0.82)	4.89 (0.76)	69.70 (0.29)	2095.2 (25.5)
Compiègne HET	Hêtre	1.28 (0.07)	42.40 (1.13)	4.37 (0.70)	55.85 (0.90)	1851.7 (94.5)
Darney	Hêtre	1.33 (0.10)	39.75 (4.61)	12.41 (2.36)	165.37 (33.19)	4980.5 (1206.7)
Reichshoffen	Chêne	1.25 (0.1)	39.17 (0.92)	6.49 (1.22)	80.53 (1.73)	2542.5 (216.8)
Verrières	Hêtre	1.47 (0.04)	43.03 (2.18)	7.45	109.21	3204.7

Table IV.3 : Quantités moyennes d'azote et de carbone (en kg par hectare) exportées par le retrait des litières. Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écart-types calculés pour les trois placeaux lorsque les litières ont été pesées sur les trois placeaux

1.3.1 Estimation des quantités d'azote et de minéraux exportées par le prélèvement des menus-bois : estimation à partir de la base de données EMERGE

La minéralomasse n'a pas encore été mesurée effectivement dans les différents compartiments pour les peuplements appartenant au réseau MOS. En disposant des masses de bois sec exportées par la récolte des menus-bois et houppiers sur les sites MOS installés à cette date, la minéralomasse perdue par ces traitements a pu être néanmoins approchée à l'aide de données préexistantes.

Les concentrations en minéraux essentiels, N, Ca, Mg, P et K ont été obtenues pour les compartiments correspondant aux résidus d'exploitation : branches et rameaux de diamètre inférieur à 7 cm et non écorcés. Les données sont issues de la base de données Emerge qui recense les compositions chimiques par compartiments pour un large spectre d'essences et de

peuplements à l'échelle de la France (Deleuze et al., 2013 ; Saint-André et al., 2014). Il ne s'agit néanmoins que d'estimations à caractère informatif puisque les concentrations n'ont pas été mesurées pour chaque site. Or la composition du bois présente une part de variabilité fortement liée au site.

site	essence	en kg par placeau					en kg par ha				
		export Ca	export Mg	export P	export K	export N	export Ca	export Mg	export P	export K	export N
Ban d'Harol	hêtre	5,39	0,90	1,22	5,83	10,35	33,69	5,63	7,62	36,43	64,71
Compiègne HET	hêtre	4,50	0,57	0,62	2,76	6,08	28,19	3,59	3,91	17,27	38,06
Darney	hêtre	3,79	0,63	0,86	4,10	7,29	23,70	3,96	5,36	25,64	45,53
Verrières	hêtre	2,20	0,28	0,31	1,35	2,97	13,77	1,75	1,91	8,43	18,59
Reichshoffen	chêne	8,60	1,40	1,12	6,08	12,67	53,84	8,78	7,04	38,07	79,30
Champenoux	chêne	11,60	0,93	0,71	4,15	0,00	72,50	5,80	4,45	25,94	57,04

Table IV.4 : Quantités d'azote (en kg sec) et de minéraux exportées par le prélèvement des menus-bois pour deux sites chêne et quatre site hêtres du réseau MOS sur la base de concentrations issues de la base de données Emerge. Elles sont estimées par placeau et à l'hectare.

Les données ont été limitées aux sites aux caractéristiques proches des peuplements étudiés. De plus, les massifs de Champenoux et de Darney ayant été intégré aux campagnes d'échantillonnage Emerge, la minéralomasse estimée pour ces deux sites peut être considérée comme très fiable.

2. Article n°3 : Quels indicateurs fonctionnels pour évaluer les impacts des prélèvements intenses de biomasse un an après manipulation ?

Emila Akroume^{1ab, 2 3}, Cyrille Bach^{1ab}, Philippe Santenoise², François Maillard^{1ab}, Bernd Zeller², Marc Buée^{1ab}, Laurent Saint-André²

¹ (a) INRA, UMR1136 Interactions Arbres-Microorganismes, F-54280 Champenoux, France (b) Université de Lorraine, UMR1136 Interactions Arbres-Microorganismes, F-54500 Vandoeuvre-lès-Nancy, France; ²INRA UR 1138 Biogéochimie des Ecosystèmes Forestiers, Centre INRA de Nancy, Champenoux ; ³Agroparistech, Centre de Nancy, F-54000 Nancy

Résumé

Les effets des retraits de litières et de menus-bois ont été évalués après un délai de six à douze mois après perturbation sur sept sites MOS. Un screening des échantillons de sol pour les profondeurs 0-5cm, 5-10 cm et 10-20 cm par spectrométrie NIR/MIR révèle une absence de différences significatives entre les modalités « témoin », « sans rémanent » et « sol nu » pour les sites hêtres. Pour les sites chênes en revanche, les analyses spectrales mettent en évidence des différences significatives entre les « sols nus » et les traitements témoin et sans rémanents, observés particulièrement dans l'horizon organique. Les gammes de fréquences d'onde concernées correspondent à celles caractérisant des groupes fonctionnels propres aux composés organiques (alcools, amides, phénols, composés aromatiques, fonctions alkyles et carbonyles). Aucun effet significatif des traitements sur les potentiels nets de minéralisation et de nitrification n'a été détecté pour les six sites échantillonnés un an après exportation de la matière organique, excepté au niveau de l'horizon minéral d'un site, Compiègne Hêtre. Néanmoins, sur les sites de Champenoux et de Reichshoffen, les potentiels de minéralisation et de nitrification apparaissent plus faibles pour les modalités « sol nu » par rapport aux autres traitements au niveau des horizons organiques et/ou organo-minéraux. Il semble se dégager des tendances à confirmer par un suivi annuel. Par ailleurs, une étude complémentaire « pilote », en amont d'un suivi plus complet, met en avant un effet significativement négatif des prélèvements de litière sur les activités N-acétyl-glucosaminidase des horizons 0-5 cm sur le site de Ban d'Harol. Bien que non significatives statistiquement, les activités cellobiohydrolases, laccases et β -glucosidases ont tendance à s'exprimer plus faiblement dans les sols dépourvus de litière et de rémanents. Ces observations nécessitent d'être confirmées

par une analyse des communautés, des estimations de biomasse microbienne et par un suivi régulier et étendu aux autres sites MOS.

1 Introduction

Dans le contexte énergétique actuel, l'intensification des prélèvements de bois se traduit en partie par l'exploitation des rémanents forestiers, qui représentent un réservoir important de minéralomasse (Achat et al., 2015). L'impact de telles exportations a été largement étudié en forêt boréale et tropicale avec un recul de plus de trente ans sur certains dispositifs. La pratique de récolte par arbres entiers (WTH) entraîne en zone boréale une diminution de la minéralisation du carbone et de l'azote dans les horizons organiques au cours des quinze premières années suivant l'exploitation (Olsson et al., 1996 ; Powers et al. 2005; Smolander et al., 2010) ainsi qu'une perte de nutriments et d'éléments échangeables (Thiffault et al. 2011; Brandtberg & Olsson, 2012). Les réponses des écosystèmes tropicaux sont similaires et beaucoup plus rapides puisque les impacts sont visibles dès un an après intervention (Mendham et al., 2003 ; O'Connell et al., 2004). Dans ces deux contextes biogéographiques, les sols étudiés sont souvent pauvres, sableux en zone tropicale ou très organiques et podzolisés dans les cas des écosystèmes boréaux et sub-boréaux. Les résultats sont différents sur les sites boréaux du réseau nord-américain LTSP pour lesquels le retrait des rémanents et de la litière provoque, trois à six ans après, une augmentation de la minéralisation nette de l'azote dans l'horizon 0-10 cm (Tan et al., 2005), voire aucun effet sur la minéralisation de l'azote (Mariani et al., 2006).

L'exploitation forestière, et *a fortiori* l'exportation intense de biomasse, impacte directement l'activité biologique des sols liée aux microorganismes fongiques et bactériens. Les activités enzymatiques extracellulaires, comme les protéases et phosphatases acides, associées aux communautés fongiques, dépendent de la quantité de bois et de litière au sol (Weintraub et al., 2013 ; Adamczyk et al., 2015). Une diminution ou suppression de la litière cause au bout d'une année une chute des activités enzymatiques responsables de la dégradation des composés cellulolytiques et de la minéralisation du carbone (Weintraub et al., 2013). La mobilisation de l'azote organique est particulièrement corrélée à la quantité en litière et de menus bois (Weintraub et al., 2013), qui régulent directement les taux de minéralisation de l'azote ainsi que son acquisition par les arbres (Titus et al., 1997). L'exploitation des rémanents peut agir à l'échelle de plusieurs rotations sur la disponibilité en azote dans les sols forestiers (Vanguelova et al., 2010), et ainsi devenir facteur limitant de la productivité forestière (Carter et al., 2002).

Depuis 2013, le réseau MOS (Matières Organiques des Sols) est installé pour suivre sur le long terme les impacts des récoltes de rémanents sur la productivité et la biodiversité des sols forestiers. Cette étude a pour objectif d'identifier d'éventuels indicateurs de ces impacts à très court terme, une année après la mise en place des traitements. Trois intensités de prélèvement sont testées : T- récolte de la grume, R- récolte de la grume et des menus-bois et SN- récolte de la grume, des rémanents et de la litière.

Nous avons abordé cette problématique en se concentrant sur trois types d'indicateurs. Comme indicateur global, la spectrométrie en proches et moyens infrarouges peut permettre de repérer l'existence d'éventuels effets des traitements en étant utilisée de façon prospective. En effet, cette technologie peut servir de « proxy » global des propriétés physiques, chimiques et biologiques des sols (cf. chapitre 1) et nous faisons l'hypothèse qu'elle permettra aussi de détecter des effets significatifs sur des fréquences caractéristiques qui pourraient révéler des impacts des traitements sur le fonctionnement des sols (molécules du sol plus affectées que d'autres en l'absence de retour de litière par exemple). Comme indicateur de changement de cycle des nutriments, les effets des manipulations de litières et de rémanents sont aussi été évalués au niveau de la minéralisation de l'azote, susceptible de réagir au cours des premières années après intervention, puisque la décomposition des litières constituent une source majeure d'azote disponible dans les sols forestiers (prédominance du cycle biologique dans le cycle de l'azote, Zeller et al., 2000). Enfin, sur trois sites pilotes, l'activité biologique a été mesurée partir de dosages enzymatiques indicateurs des métabolismes de l'azote, du phosphore et du carbone. Cette dernière étude se concentre sur les effets des retraits de litière sur l'horizon organique (0-5 cm). Du fait de la mise en place très récente des dispositifs, nous nous attendons à identifier des impacts significatifs principalement dus aux retraits des rémanents et des litières, exportation de matière organique la plus extrême (traitement SN).

2 Matériels & méthodes

2.1 Sites d'étude et plan d'échantillonnage

Cette étude a été menée sur trois sites chênes (*Quercus petraea* L.) et trois sites hêtres (*Fagus sylvatica* L.) du dispositif MOS situés dans la moitié nord de la France (table 1). Ces sites s'étendent sur environ 2 ha, découpés en douze placeaux correspondant chacun à une modalité de gestion des rémanents de la litière. Dans le cadre de cette étude, trois traitements sont testés et répétés trois fois, sur des placeaux de 40 m par 40 m: (i) sylviculture traditionnelle, qui correspond à la modalité témoin (T) (récolte de la grume et des branches de

diamètre supérieur à 7 cm) ; (ii) retrait en plus des menus-bois (R – branches de diamètre inférieur à 7cm) ; (iii) retrait de la litière au sol en plus des menus-bois (sol nu=SN). Le dispositif du réseau MOS a été décrit précédemment (cf. chapitre 1). Sur les sites étudiés, les travaux de manipulations des litières et des rémanents ont eu lieu entre novembre 2013 et juillet 2014, et les quantités exportées de bois et de litière ont été évaluées par pesée. La biomasse sèche de litière récoltée s'échelonne entre 4.4 et 12.4 tonnes par hectare selon les sites, avec une quantité légèrement plus abondante pour les peuplements de hêtre. La masse sèche de menus-bois prélevés est aussi très variable selon les sites en raison de l'âge des peuplements, de la densité de tiges à l'hectare et l'intensité de l'éclaircie réalisée.

Pour chaque site, il a été calculé l'indice de charge tel que décrit dans Saint-André et al. (2008). Cet indice rapporte la quantité d'azote exporté lors du retrait de la biomasse forestière à la quantité d'azote disponible dans l'horizon 0-10 cm. Elaboré à partir de données en forêt tropicale, cet indice explique plus de 75% de la perte de surface terrière des peuplements consécutive aux exportations de biomasse (litière et résidus d'exploitation). Pour les sites MOS considérés, cet indice de charge a été calculé pour évaluer l'impact du seul prélèvement des litières (= N exporté par les litières / %N dans l'horizon 0-10 cm) puis pour évaluer l'impact des exportations des menus-bois et des litières (= N exporté par les litières + rémanents / %N dans l'horizon 0-10 cm). Ces indices sont calculés pour les trois placeaux SN. Les concentrations en azote des litières et des sols (0-10 cm) utilisées dans ce calcul correspondent à celles mesurées pour chaque plateau « sol nu ». Les concentrations en azote des branches ont été estimées à partir de la base de données Emerge et n'ont pas été réellement mesurées pour chaque site MOS (cf. § 1.3.1).

Forêt	Code	Age	Essence	Altitude (m)	type d'humus	Texture de sol	pH (0-5 cm)	% N litière	% N (0-10 cm)	dates d'installation des traitements	masse sèche de litière exportée (t/ha)	masse sèche de menus-bois exportée (t/ha)	indice de charge (litière)	indice de charge (litière + menus-bois)
Champenoux (54)	CHAMP	40 ans	chêne	280	eumull/mesomull	argilo-limoneux	5.11	1.37 (0.21)	0.24 (0.06)	novembre 2013	5.5 (0.13)	10.9 (1.11)	323.5 (85.54)	560.2
Compiègne (60)	CompCHE	30 ans	chêne	180	eumull/mesomull	sablo-limoneux	5.17	1.43 (0.004)	0.15 (0.04)	février 2014	4.9 (0.76)	nd	470.8 (5.90)	nd
Compiègne (60)	CompHET	40 ans	hêtre	185	eumull	sablo-limoneux	4.84	1.28 (0.07)	0.15 (0.04)	avril 2014	4.4 (0.70)	9.7 (0.76)	376.7 (19.66)	632.5
Darney (88)	DAR	35 ans	hêtre	500	mesomull/oligomull	limono-sableux	4.55	1.33 (0.10)	0.18 (0.04)	janvier 2014	12.4 (2.36)	14.2 (7.45)	932.1 (163.67)	1186.3
Reichshoffen (67)	REICH	40 ans	chêne	270	mesomull/dysmull	limon	4.83	1.25 (0.1)	0.15 (0.06)	décembre 2013- janvier 2014	6.5 (1.22)	15.2 (4.98)	588.8 (233.60)	1069.0
Verrière du Grosbois (25)	VERR	55 ans	hêtre	585	mesomull/oligomull	limon	4.36	1.47 (0.04)	0.22 (0.06)	mai-juillet 2014	7.5	4.7 (3.69)	493.8	577.8
Ban d'Harol (88)	BAN	35 ans	hêtre	350	mesomull	limono-argileux	4.70	1.32 (0.09)	0.15 (0.03)	juin-juillet 2014	6.6	20.2 (4.16)	581.9	1011.8

Table 1 : Description des sites expérimentaux étudiés (cf. articles n°1 et 2). * Le site de Ban d'Harol n'a été échantillonné que dans le cadre des mesures d'activités enzymatiques (cf. 2.4).

Les valeurs entre parenthèses correspondent aux écart-types. nd= données non disponibles

Les sols ont été prélevés en septembre-octobre 2014 à raison de cinq carottes par plateau de 40*40 m. Les carottages ont été effectués au centre et aux quatre coins de chaque plateau. Sur chaque site, neuf plateaux sont échantillonnés, ce qui conduit à 45 prélèvements par site expérimental. Le site chêne de Compiègne fait exception puisqu'il ne comporte que deux plateaux répétitions pour chaque traitement en raison de sa surface plus limitée. L'échantillonnage se focalise sur les horizons 0-5cm, 5-10 cm et 10-20 cm.

2.2 Spectrométrie proche et moyen infrarouge

Les sols sont tamisés à 4 mm et séchés pendant 5 jours à l'étuve à 30°C avant broyage. Les échantillons sont à nouveau séchés à 30°C durant 24 heures avant les analyses infrarouges. Elles sont réalisées en proche infrarouge (de 9997 à 2200 cm^{-1}) et moyen infrarouge (de 5000 à 550 cm^{-1}) à l'aide d'un spectromètre HTS-XT Bruker (Vertex 70, NIR-MIR-MCT, Bruker Corporation, Billerica, MA). Le MIR s'étend sur 2566 fréquences d'onde et le NIR sur 4044 fréquences d'onde.

2.3 Minéralisation de l'azote

Pour chaque plateau, les sols tamisés sont assemblés de manière à obtenir un seul échantillon par plateau et par profondeur. Chaque traitement est donc répété trois fois par site pour chaque profondeur. 200 grammes de sol humide (60% de rétention d'eau) de ces échantillons sont mis à incuber dans des bocaux de 2 L durant six semaines à 20°C. L'azote minéral (NH_4^+ et NO_3^-) est extrait à partir de 40 g avec 200 mL de K_2SO_4 à 0.5M, sous agitation pendant une heure. Le dosage des ions ammonium et nitrate dans les solutions est effectué par un analyseur colorimétrique à flux continu (TRAACS, Bran and Luebbe). Une première mesure sur le sol frais correspond à la mesure T0 avant incubation. Les concentrations en NH_4^+ et NO_3^- sont ensuite déterminées à 21 jours d'incubation (T1), puis à six semaines d'incubation (T2).

2.4 Dosages des activités enzymatiques des solutions de sol

Six activités enzymatiques, caractéristiques de l'activité biologique des communautés fongiques des sols forestiers, ont été testées: laccases, leucines aminoptidases, phosphatases acides, chitinases, cellobiohydrolases et β -glucosidases. Dans cette perspective, une seconde campagne de prélèvements de sol a été menée au mois de juin 2015 sur les sites expérimentaux de Champenoux, Darney et Ban d'Harol. Ce dernier n'avait pas l'objet de prélèvements dans le cadre de l'échantillonnage d'automne 2014 en raison de son installation

plus tardive. Alors que sur Darney et Champenoux les litières ont été retirées depuis 18 mois, le retrait des litières ne datait que de 11 mois sur Ban d'Harol. Il permettra d'identifier d'éventuels effets très précoces des manipulations de litière et tiendra le rôle de « réplique géographique » de Darney en raison de sa proximité géographique et stationnelle.

Le plan d'échantillonnage a été optimisé de façon à s'affranchir de l'hétérogénéité entre les différents placeaux d'un même site. Sur chaque site, nous avons sélectionné un placeau témoin (T) et un placeau « sol nu » (SN) contigus. Après avoir délimité une zone tampon de 2 m de part et d'autre, dix carottes de sol ont été prélevées pour chaque modalité, le long de la limite entre les deux placeaux. Les sols sont ensuite tamisés à 4mm, mis en suspension dans de l'eau déminéralisée (dilution au 1/10) et laissés à incuber sous agitation durant une nuit. Les activités enzymatiques sont mesurées par fluorimétrie et colorimétrie en microplaques de lecture selon le protocole décrit dans des articles antérieurs (Pritsch et al., 2004; Courty et al., 2005). Ces solutions de sol sont à nouveau diluées au 1/10 dans un tampon de tris-acétate (pH= 4.5) sauf pour le dosage des leucines aminoptidases qui nécessite un tampon de tris-HCl pour un pH optimal de 8. Elles sont mises à incuber en présence du substrat adapté pour chaque test, basé sur un standard 4-methylumbelliférol (MU) ou 7-amino-4-méthylcoumarin (AMC) : MU-phosphate (MU-P) pour les activités phosphatase acide (EC 3.1.3.2), MU- β -glucopyranoside (MUG) pour la β -glucosidase (EC 3.2.1.3), MU-N-acetyl- β -N-glucosaminide (MU-NAG) pour la chitinase, MU- β -cellobioside (MU-C) pour la cellobiohydrolase (EC 3.2.1.91), et la leucine-AMC (Leu-AMC) pour la leucine aminopeptidase (EC 3.4.11.1) (Courty et al., 2005). Le dosage des activités laccases utilise sur un substrat ABTS mesuré par colorimétrie. Les temps d'incubation dépendent de chaque substrat (Pritsch et al., 2004). Les mesures sont effectuées sur le lecteur microplaque Victor3 (Wallac Perkin-Elmer Life Sciences, Villebon-Sur-Yvette, France). Les résultats des dosages (fluorimétrie et colorimétrie) correspondent à une absorbance relative quantifiée en Unité Arbitraire (UA).

2.5 Analyses statistiques

Les données spectrales sont traitées de façon à identifier des fréquences ou des gammes de fréquences d'onde traduisant des différences entre les sols prélevés sur les trois traitements étudiés. Un script a été écrit sous R (<https://www.r-project.org/>) pour tester l'effet du facteur « traitement » sur chaque nombre d'onde des gammes NIR et MIR par un test d'égalité des moyennes. Il détecte les nombres d'onde ou gammes de nombres d'onde pour lesquelles les moyennes des absorbances pour chaque nombre d'onde sont significativement différentes

entre traitements (en fixant un seuil de significativité pour une p-value inférieure à 0.05). Les p-values sont corrigées selon la méthode de Bonferroni qui tient compte les échantillons éventuellement déséquilibrés. Chaque horizon est traité indépendamment, les tests de moyenne sont effectués sur des jeux de données comportant quinze répétitions par traitement. Ces informations sont confirmées par analyses en composantes principales (ACP) sur les données spectrales afin d'identifier une éventuelle dichotomie des spectres de sol en fonction des traitements. Les ACP sont réalisées sous R avec la fonction *dudi.pca* du package *ade4* et les représentations graphiques sont obtenues en utilisant la fonction *ggplot* du package *ggplot2*.

Les effets des traitements sur la minéralisation de l'azote et les activités enzymatiques sont identifiés par analyse de variances sous SAS 9.2 software (SAS Inc., Cary, NC, USA) en utilisant une procédure *nested* GLM qui teste l'effet « traitement », inclus dans les effets essences et sites. Le seuil de significativité est fixé à 0.05.

3 Résultats

3.1 Résultats des analyses spectrales

L'analyse des spectres NIR et MIR a pour objectif une prospection globale des effets des traitements sur les propriétés des sols. Les différences visibles entre traitements sont mises en évidence de façon plus nette par les zones MIR et sur les zones NIR qui recouvrent les moyens infrarouges. Sur les sites Hêtre, aucune différence significative entre les modalités SN, R et T n'a été détectée sur les spectres de sol, quelques soient les profondeurs en NIRS ou en MIRS. Pour aucune profondeur les ACP ne révèlent de séparation par traitement, que ce soit sur les spectres proches ou moyens infrarouges.

Sur les trois sites Chênes, on observe des effets significatifs entre les traitements SN/T et SN/R, visibles sur les spectres NIR et MIR. Le traitement « sans rémanent » n'implique en revanche aucun impact notable sur les spectres de sol par rapport aux sols témoins. Les différences spectrales entre les traitements SN/T et SN/R sont les plus remarquables sur l'horizon 0-5 cm et sont détectées plutôt dans les moyens infrarouges (figure 1a et 1b).

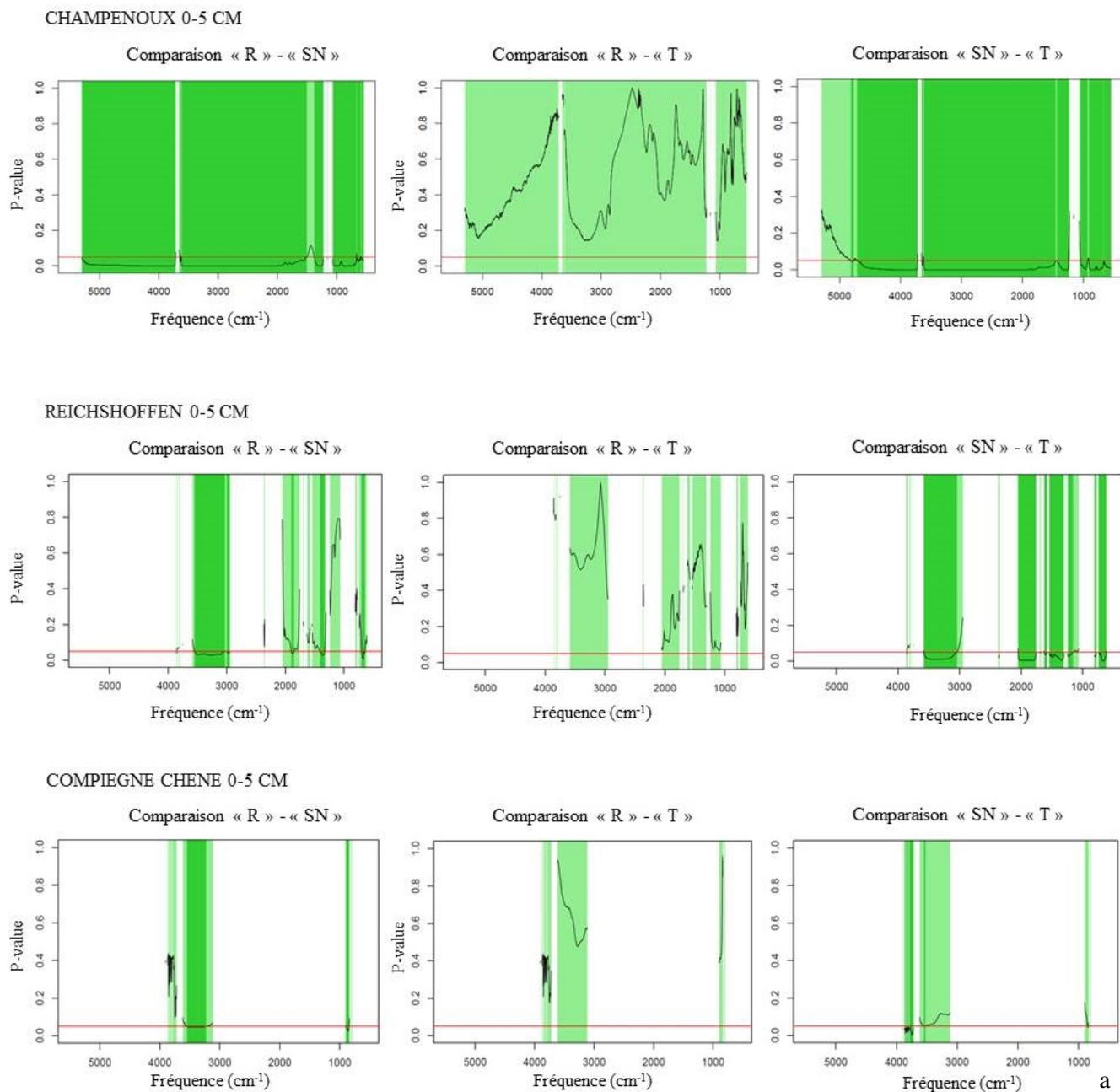


Figure 1a : Sortie du script R de comparaison de moyennes sur les données MIR pour l'horizon 0-5 cm des trois sites chênes. Lorsque l'effet est significatif, la courbe des p-values passe sous la barre rouge indiquant la valeur seuil de 0.05. Les gammes de fréquence d'onde pour lesquelles les effets « traitement » sont significatifs sont en vert vif. Les zones en blanc correspondent aux fréquences d'onde pour lesquelles il n'y a aucun effet significatif. Le vert pâle indique l'existence de différences significatives pour d'autres modalités que celles illustrées sur le graphe en question.

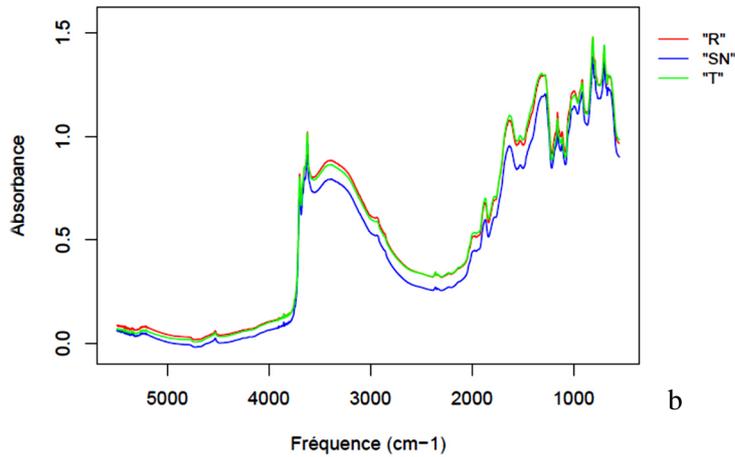


Figure 1b : Représentation des spectres MIR par traitement pour l'horizon 0-5cm du site de Champenoux

Les ACP réalisées sur les spectres des sols révèlent, pour les sites chênes, une nette dichotomie entre les sols SN et les sols ayant conservé leur couverture de litière (R et T). Pour tous les sites et toutes les profondeurs, les deux premiers axes d'ACP expliquent plus de 80% de la variabilité (figure 2).

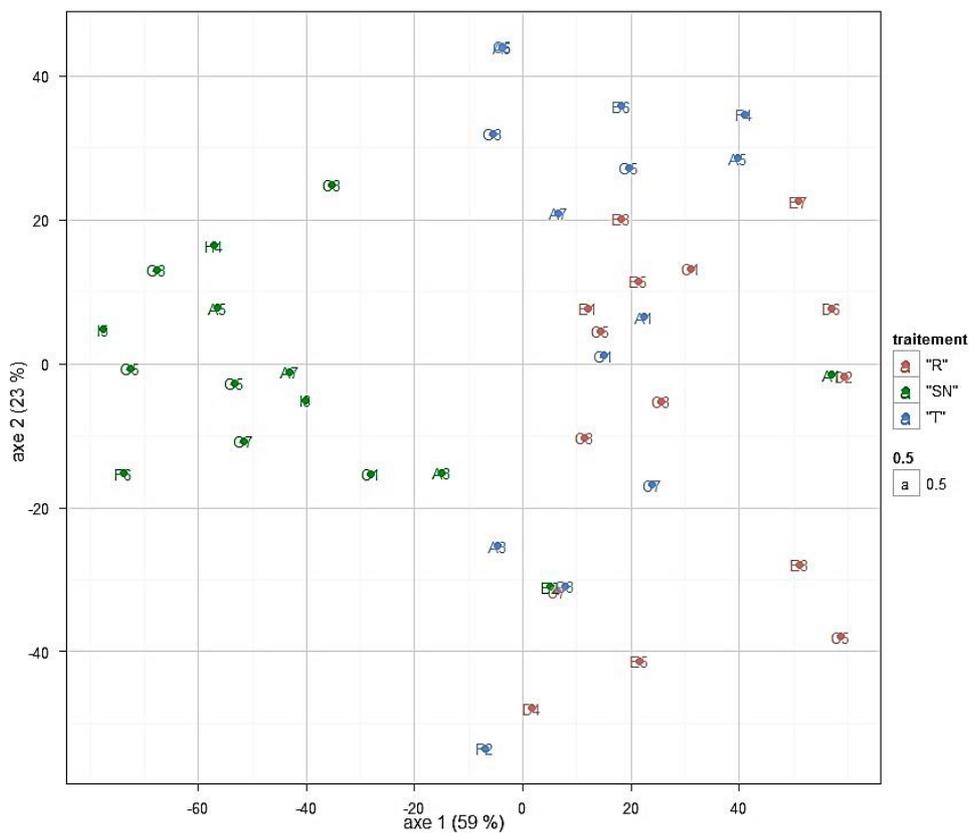


Figure 2 : Analyse par composantes principales sur les spectres MIR pour l'horizon 0-5 cm du site chêne de Champenoux selon les axes 1 et 2, qui expliquent respectivement 59% et 23% de la variabilité

3.2 Minéralisation de l'azote

Les concentrations initiales de NH_4^+ et de NO_3^- , mesurées avant l'incubation et rapportées à la quantité de sol sec, décroissent significativement avec la profondeur (Figure 3 et 4). Les sites chênes sont significativement plus pauvres en NO_3^- que les sites hêtres ($p_{\text{val}} < 0.05$). Les analyses de variance ne mettent en évidence aucune différence significative entre traitements pour les quantités de nitrate et d'ammonium avant incubation (T0). Néanmoins, le site de Champenoux, qui présente une quantité d'ammonium plus faible pour la modalité R et une quantité de nitrate inférieure pour le traitement SN par rapport aux deux autres modalités. Ces résultats constituent une validation supplémentaire de la méthode développée pour la disposition des traitements présentée au chapitre 1. De même, il n'y a aucune différence significative entre les trois modalités au niveau du pourcentage de nitrate à T0 ($\text{NO}_3^- / (\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+)$) comme l'illustre la figure S1.

Les potentiels nets de minéralisation de l'azote (PNM) et de nitrification (PNN) ont été calculés après les sept semaines d'incubation. Aucun effet significatif des traitements n'a été détecté au niveau du PNN (figure 5) et du PNM (figure 6) pour les différents horizons, excepté pour le site de Compiègne hêtre. Sur ce site, les potentiels de minéralisation et de nitrification sont plus faibles dans l'horizon minéral des modalités « sols nus » par rapport à ceux des modalités « témoins » et « sans rémanent » (figure 5c et 6c). Les p-values sont respectivement de 0.018 et de 0.013.

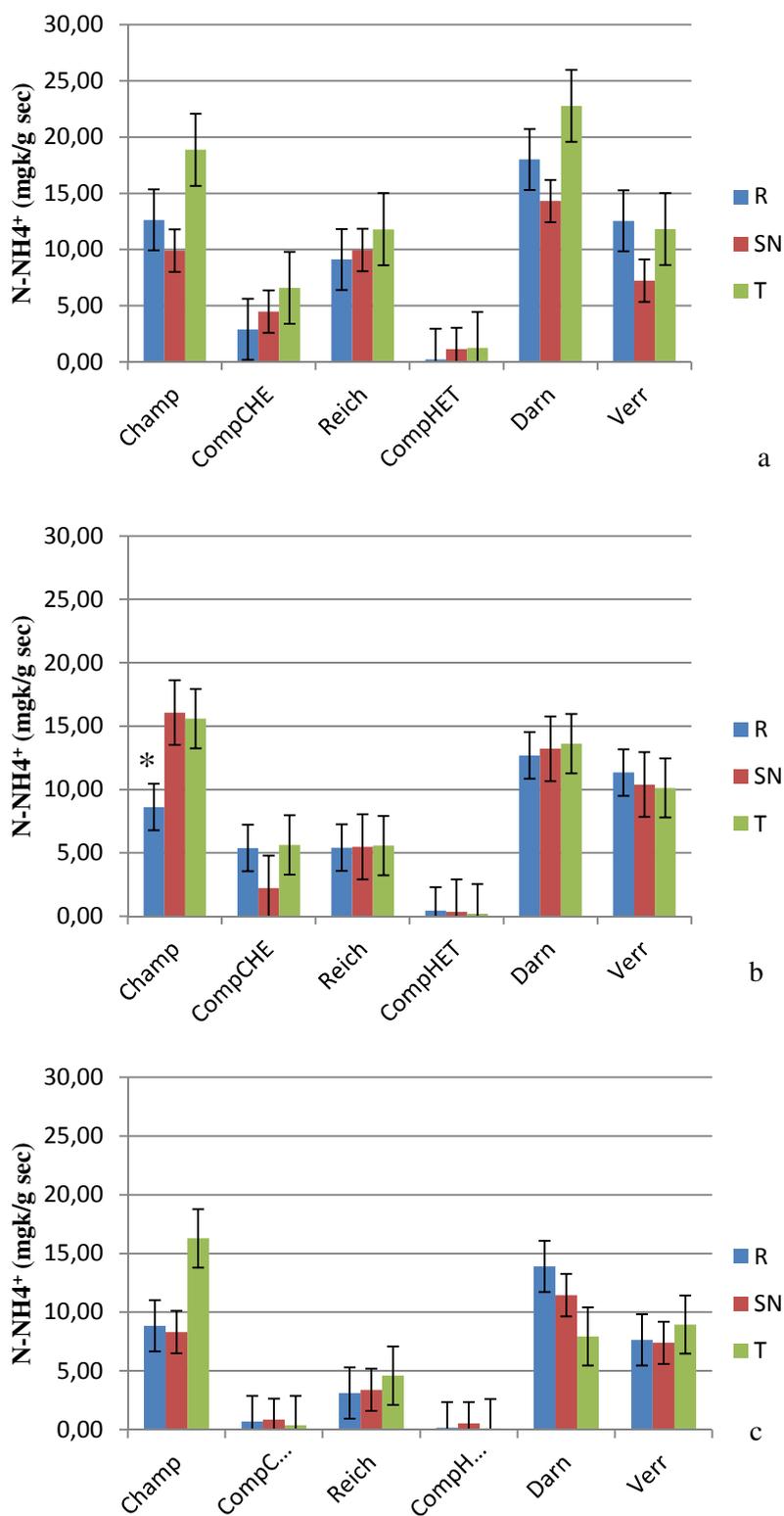


Figure 3 : Quantités d'ammonium en mg par kg de sol sec pour les 3 sites chênes (Champ=Champenoux, CompCHE= Compiègne chêne, Reich=Reichshoffen) et les 3 sites hêtres (CompHET = Compiègne hêtre, Darn= Darney, Verr=Verrières-du-Grosbois) pour les horizons 0-5 cm (a), 5-10 cm (b) et 10-20 cm (c) avant incubation. Les différences significatives sont indiquées par une étoile et les erreurs standards par les barres d'erreur.

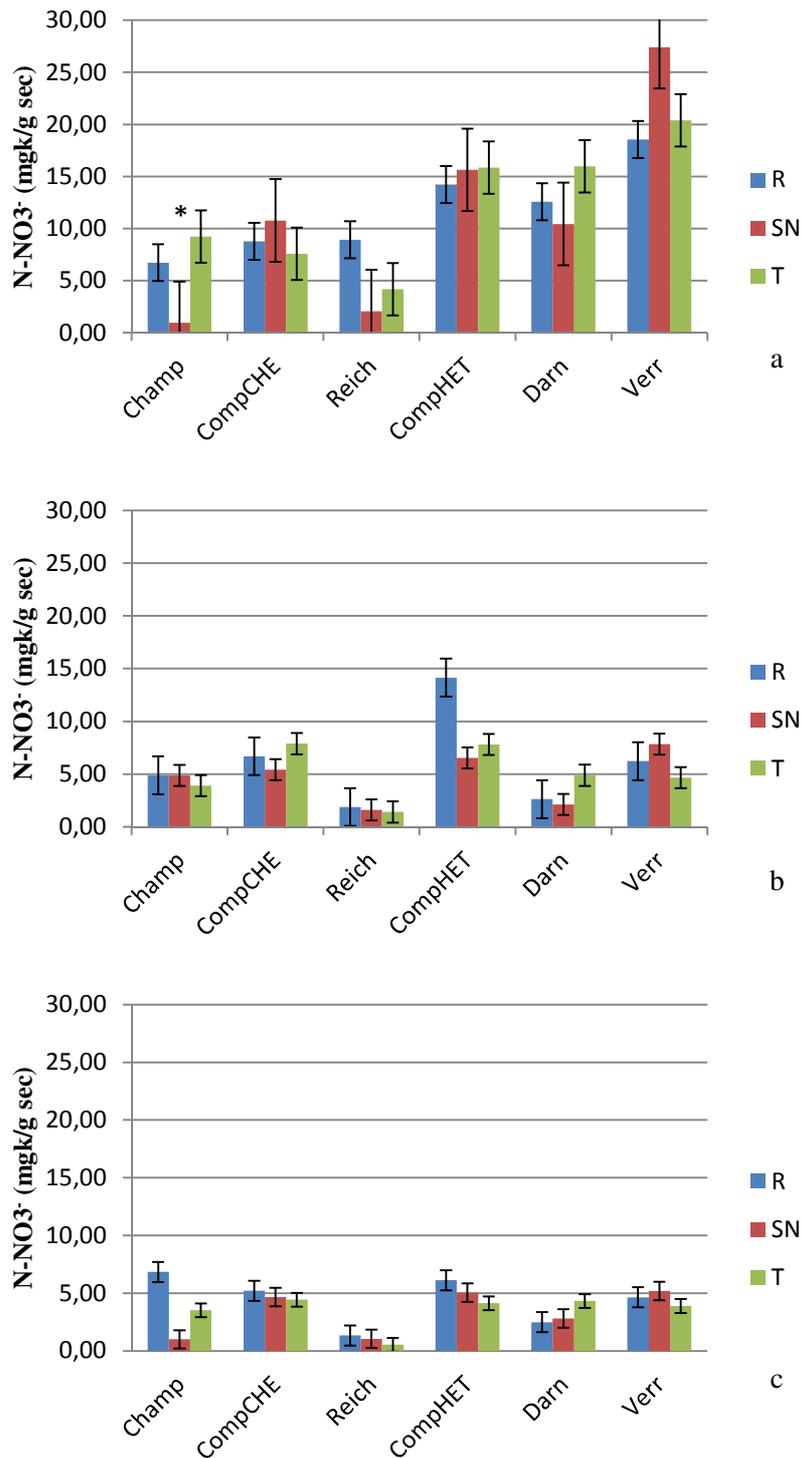


Figure 4 : Quantités de nitrates en mg par kg de sol sec pour les 3 sites chênes (Champ=Champenoux, CompCHE= Compiègne chêne, Reich=Reichshoffen) et les 3 sites hêtres (CompHET = Compiègne hêtre, Darn= Darney, Verr=Verrières-du-Grosbois) pour les horizons 0-5 cm (a), 5-10 cm (b) et 10-20 cm (c) avant incubation. Les différences significatives sont indiquées par une étoile et les erreurs standards par les barres d'erreur.

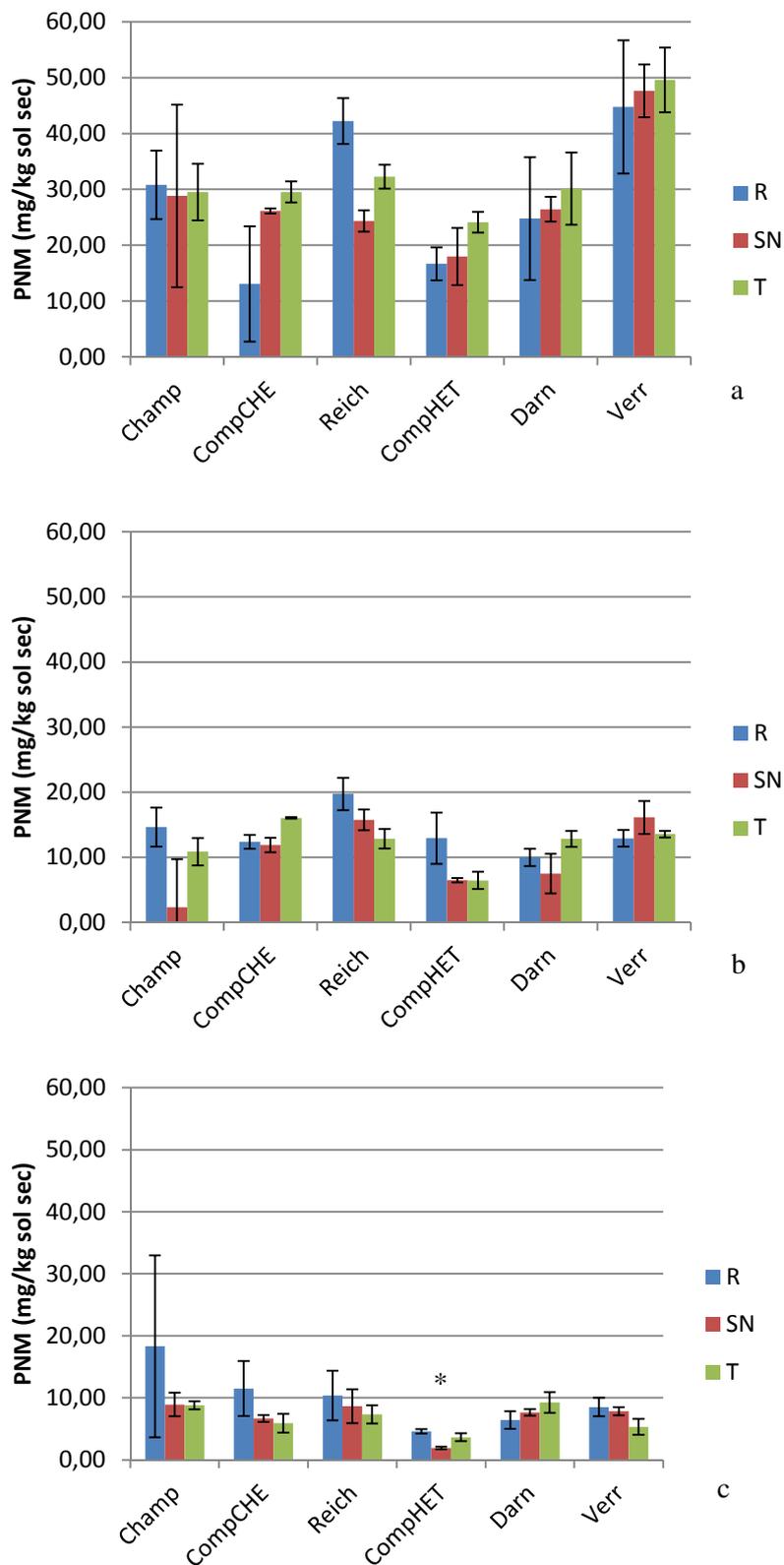


Figure 5: Potentiel de minéralisation net en mg par kg de sol sec pour les 3 sites chênes et les 3 sites hêtres pour les horizons 0-5 cm (a), 5-10 cm (b) et 10-20 cm (c). Les barres d'erreur représentent les erreurs standards et les différences significatives sont indiquées par une étoile.

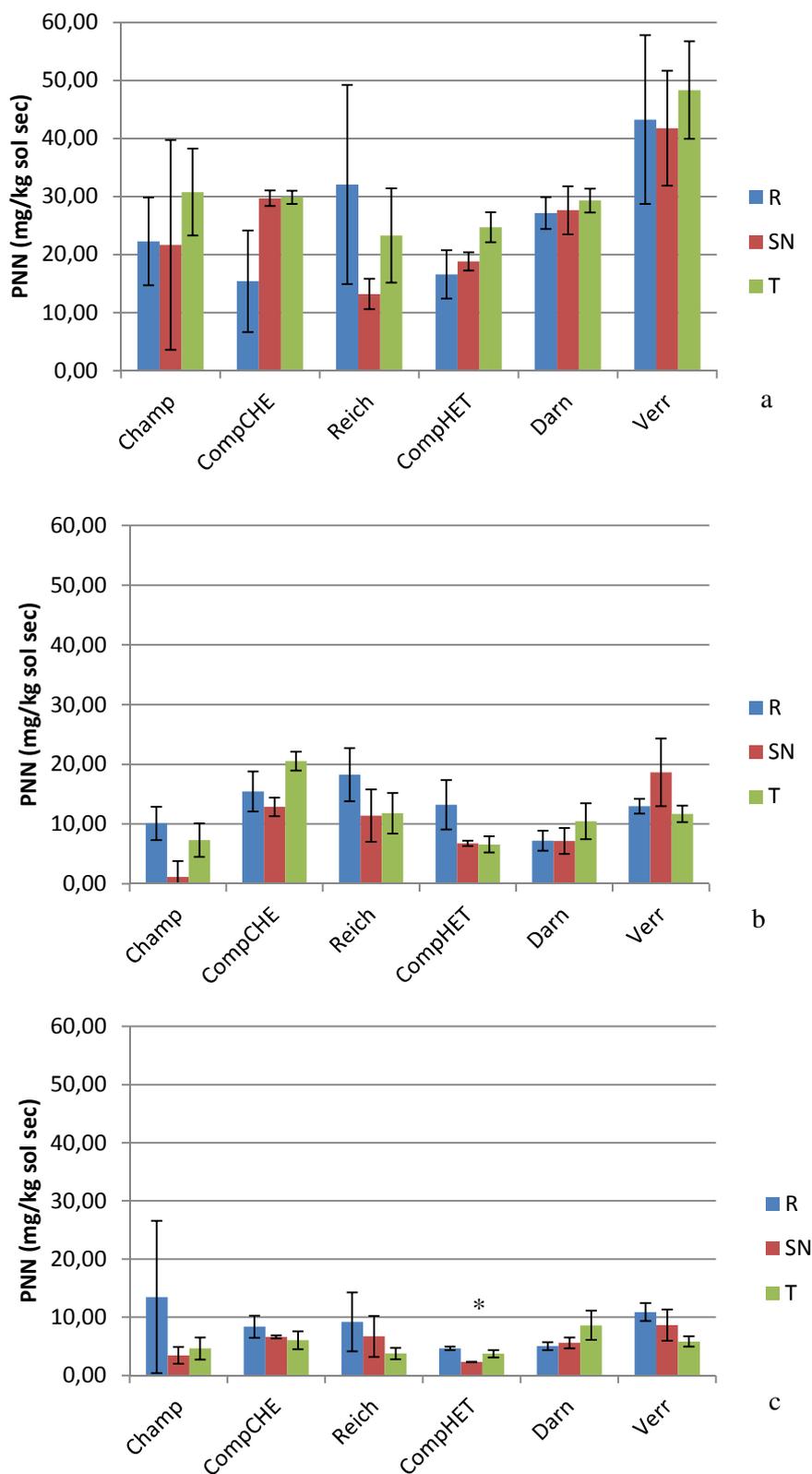


Figure 6: Potentiel de nitrification net en mg par kg de sol sec pour les 3 sites chênes et les 3 sites hêtres pour les horizons 0-5 cm (a), 5-10 cm (b) et 10-20 cm (c). Les barres d'erreur représentent les erreurs standards et les différences significatives sont indiquées par une étoile.

3.4 Activités enzymatiques des solutions de sol pour l'horizon 0-5 cm

Les activités β -glucosidases sont positivement corrélées avec les pH de l'horizon 0-5 cm (respectivement $r^2 = 0.57$ et 0.77 , $p\text{-value} < 0.05$) et les activités laccase et cellobiohydrolases sont positivement reliés au rapport C/N du même horizon (respectivement $r^2 = 0.96$ et 0.83 , $p\text{-value} < 0.05$). Les activités leucines aminopeptidases (figure 7e) étant très faibles, voire négatives et proches du seuil de détection, les résultats de ce test ne sont pas exploitables.

Aucune différence significative entre SN et T n'a été identifiée pour les activités laccases (figure 7a), cellobiohydrolases (figure 7d) et β -glucosidases (figure 7f) pour les trois sites. L'analyse de variance a permis de détecter un effet significatif du traitement sur les activités N-acétyl-glucosaminidase (figure 7b) sur le site Ban d'Harol. Elles se traduisent par une activité plus faible sur les sols nus par rapport aux témoins. Sur le site de Champenoux, l'absence de litière entraîne une diminution significative de l'activité phosphatase acide par rapport à la condition contrôle (figure 7 c). Bien que non significative sur la totalité des sites, la tendance observée illustre une diminution de ces activités dans le cas où la litière a été prélevée par rapport aux situations témoin. De même, les activités β -glucosidases et cellobiohydrolases semblent plus faible pour les sols de modalités SN de Ban d'Harol.

Cette étude a été réalisée à nouveau sur les trois mêmes sites, selon le même plan d'échantillonnage en octobre 2015. Cette seconde phase de prélèvements confirme la diminution significative des activités chitinases sur les traitements SN par rapport aux témoins sur le site de Ban d'Harol (figure 8). En revanche, la diminution des activités phosphatases acides sur les sols nus du site de Champenoux n'est pas appuyée par ce deuxième prélèvement (données non disponibles).

4. Discussion

Dans la perspective d'identifier de potentiels impacts des exportations de matière organique à très court terme, nous avons restreint l'échantillonnage aux vingt premiers cm, profondeur de sol la plus susceptible de réagir à ces perturbations (Sayers, 2006). Les horizons plus profonds ne seront pas impactés dans ce court laps de temps, comme observé dans des plantations d'Eucalyptus pour lesquelles les récoltes de litières n'avaient pas provoqué d'effet sur les concentrations de C et N au-delà des 30 premiers cm (D'Annunzio et al. 2008). L'azote issu de la dégradation des litières est essentiellement incorporé entre 15 et 20 cm en zone tropicale (Versini et al. 2014) et dans l'horizon 0-5 cm dans le cas de forêts feuillues (Swantson and Myrold 1997; Zeller et al. 2001).

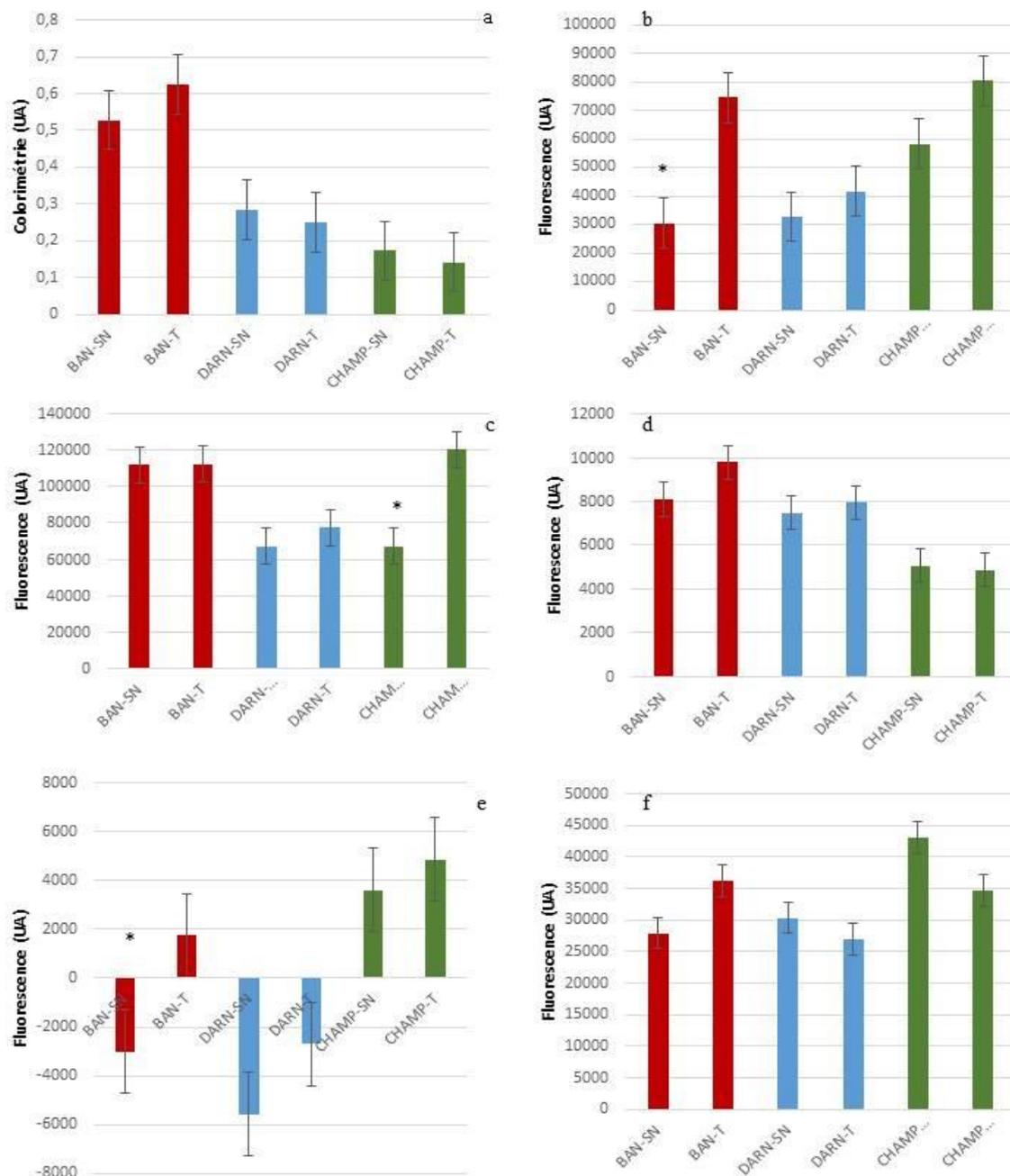


Figure 7 : Résultats des dosages d'activités enzymatiques laccases (a), N-acétyl-glucosaminidase (b), phosphatase acide (c), cellobiohydrolase (d), leucines aminopeptidases (e) et β -glucosidases (f). Les absorbances sont représentées en unité arbitraire (UA). Les erreurs standards sont représentées par les barres d'erreur et les différences significatives sont indiquées par des étoiles.

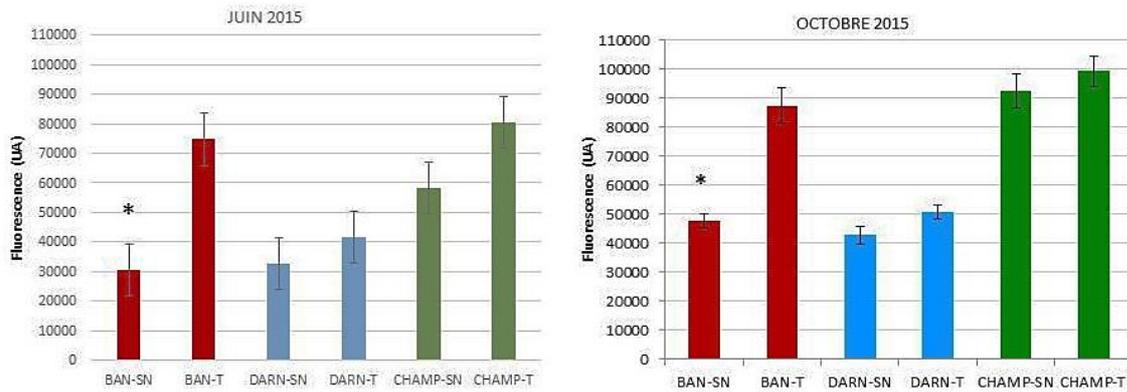


Figure 8 : Résultats des dosages d'activités N-acétyl-glucosaminidases pour les prélèvements de juin et octobre 2015. Les barres d'erreurs correspondent aux erreurs standards.

4.1 Mise en évidence de différences significatives par spectrométrie NIR/MIR

Les résultats des analyses spectrales sont à considérer avec prudence en raison de la sensibilité de la spectrométrie NIR/MIR et du nombre relativement limité du nombre d'échantillon par profondeur et par traitement (15 échantillons par traitement et par horizon pour chaque site expérimental). Du fait du caractère très récent des traitements *in situ*, les effets des exportations de biomasse sont difficilement détectables. L'absence de différence nette au niveau des sols des peuplements de hêtre de Verrières-du-Grosbois et de Compiègne pourrait être liée au laps de temps très court entre l'installation des traitements et la date de prélèvements (inférieur à un an). Néanmoins, le site de Darney mis en place début 2014 ne présente pas non plus de différence notable entre traitements, malgré un indice de charge très élevé (table 1). Cela laisse suggérer une rémanence de l'écosystème sur une année après une perturbation intense. Pourtant, il semble se dégager des premières tendances entre les placeaux sans litière et ceux l'ayant conservée sur les sites installés sous chêne. Les quantités de litière sont légèrement moins importantes pour les peuplements de chênes, qui sont, dans notre étude, principalement situés sur des sols pourvus d'un humus peu épais de type eumull ou mesomull, présentant un turn-over rapide des matières organiques. De plus, les litières de chêne sont connues pour se décomposer plus rapidement que les litières de hêtre sous nos conditions tempérées (Sariyildiz, 2003) et leur composition chimique diffère de celle des hêtres, notamment plus riche en lignine (Sariyildiz & Anderson, 2005). L'épaisseur de la litière et de l'horizon organique jouerait un rôle de tampon des flux de nutriments à court terme. En effet, l'azote organique s'accumule dans les humus épais où la litière se décompose plus lentement et demeure disponible dans cet horizon organique plus lentement que dans les humus à turn-over rapide (type mull) (Sallèles, 2014). A très court terme, le retrait des litières

impacterait prioritairement les sites dont la décomposition de la chute de litière annuelle est rapide.

Sur les trois sites chênes, on peut noter que les bandes de nombres d'onde concernées par les différences significatives entre les traitements SN et T ou R correspondent : aux zones de 3500 à 3000 cm^{-1} , caractéristiques des fonctions alcools, phénols et acides ; à la bande de 2900 cm^{-1} (liaisons C-H aliphatiques) ; aux zones de 1600 à 1200 cm^{-1} , signant les groupes acides carboxyliques, amines primaires et composés aromatiques ; aux bandes entre 800 et 600 cm^{-1} , révélatrices de composés inorganiques comme les argiles et de liaisons C-H de cycles aromatiques (Ludwig et al., 2008 ; Tatzber et al., 2011). La zone de nombres d'onde de 1200 à 900 cm^{-1} , au niveau de laquelle on observe des différences significatives entre le sol nu et les modalités T et R, est recensée comme caractéristique des liaisons C-O-C des polysaccharides (Ludwig et al., 2008). Ces gammes de nombres d'onde signent des groupes fonctionnels présents dans les sucres simples ou complexes, qui peuvent provenir de la dégradation des lignines, celluloses et hémicelluloses issues de la litière. Néanmoins, les mesures des potentiels enzymatiques ne relèvent aucune différence entre traitement pour les activités cellobiohydrolases et β -glucosidases (Figure 7) sur les trois sites étudiés.

4.2 Minéralisation de l'azote

Les traitements de retrait des rémanents et de la litière n'ont pas impacté les horizons 0-5 cm et 5-10 cm. Les exportations de biomasse sont très récentes puisqu'elles précèdent la phase d'échantillonnage de 6 à 12 mois, ce qui explique certainement l'absence de réponse claire de l'écosystème. Sur des sols sableux au Congo, deux ans après la réalisation des travaux, des manipulations similaires de retrait des litières et des résidus de coupe n'avaient pas entraîné d'impact sur la minéralisation nette de l'azote (Nzila et al., 2002). Malgré la quantité significativement plus basse de NO_3^- dans l'horizon supérieur SN du site de Champenoux, on n'observe pas d'effet significatif de ce traitement après incubation. Cela laisse supposer que le fonctionnement des communautés microbiennes responsables de la transformation de l'azote organique en azote minéral n'a pas été affecté par le retrait de la litière.

Les effets significatifs observés pour l'horizon minéral du site de Compiègne hêtre sont à regarder avec circonspection au vu du peu de répétitions, des faibles concentrations, et de l'absence de tendances similaires dans les horizons supérieurs. Ils demandent donc à être confirmés.

L'absence d'impact significatif des traitements à si court terme sur la minéralisation et la nitrification dans les sols forestiers a déjà été observée sur des peuplements feuillus ou

résineux tempérés (Pérez-Batallon et al., 2001) et sub-boréale (Kranabetter & Sanborn, 2003 ; Mariani et al., 2006). Cela suggère une rémanence des fonctionnalités des sols après perturbation quant au métabolisme de l'azote. En se focalisant sur l'horizon supérieur (0-5 cm), on peut néanmoins distinguer sur les sites chênes de Champenoux et de Reichshoffen, que les traitements SN ont tendance à présenter un pourcentage de nitrate (Figure S1) ainsi qu'un potentiel de nitrification et de minéralisation plus faible que les traitements R et T (Figure 5a et 6a). Sur ces deux sites, il semble que le processus de nitrification soit moins dynamique même après incubation (figure S2). On peut noter que ces deux sites sont ceux dont les litières sont les plus pauvres en azote total (table S1), la composition azotée des litières influençant leur taux de décomposition ainsi que les processus de minéralisation (Berg & Cortina, 1995). En regardant ces résultats à la lumière de l'indice de charge calculé pour chacun des sites (table 1), les récoltes des litières et des rémanents pourraient affecter plus intensément les flux d'azote des sols de Reichshoffen (indice de charge élevé) si l'apport d'azote organique est drastiquement réduit sur plusieurs années consécutives. Les concentrations d'azote dans le sol du site de Champenoux en revanche semblent suffisamment importantes par rapport aux exportations subies. Les tendances détectées sont à confirmer par les campagnes suivantes et à expliquer par d'autres phénomènes que le seul apport de litière, par exemple par les processus biologiques.

4.3 Activités enzymatiques des solutions de sol de l'horizon 0-5 cm

Pour cette expérimentation complémentaire, seul l'horizon 0-5 cm avait été prélevé. Peu de différence significative entre les modalités SN et T ont été relevées pour ces trois sites, manipulés depuis 11 à 18 mois. Le retrait total des litières et des menus-bois ne semble provoquer aucun impact net sur les activités enzymatiques sur le site hêtre de Darney. Sur le site de Champenoux, les activités phosphatases acides diminuent significativement lorsque la litière est absente. Une étude de 2013 a montré que les activités phosphatases acides étaient positivement corrélées avec la quantité de litière en forêt tropicale (Weintraub et al., 2013). Les activités phosphatases acides dépendent de la qualité des litières et sont en partie secrétées par les communautés ectomycorhiziennes (Conn & Dighton, 2000). Néanmoins, l'effet négatif du retrait des litières sur les activités phosphatases ne semble pas s'être répété pour le deuxième échantillonnage de ces trois sites MOS.

Pour le site de Ban d'Harol sur lequel les exportations de biomasse ne dataient que de onze mois, ce site semble réagir plus rapidement que les deux autres, malgré la moindre durée de l'impact dû aux traitements. Ce pourrait être lié au caractère plus acide du sol, ainsi qu'au

C/N plus élevé (et à l'humus plus épais). Néanmoins, le site de Darney présente des conditions stationnelles proches sans être affecté de façon significative. Les activités chitinases apparaissent notablement plus faibles sur les placeaux sans litière. Cette diminution des activités N-acétyl-glucosaminidase a été confirmée par la deuxième campagne de prélèvement d'octobre 2015 et des tendances similaires sont identifiées sur tous les sites. Cette activité catabolique, impactée, négativement par le prélèvement des litières est liée à l'acquisition de l'azote, dont les litières forestières constituent une source essentielle (Zeller et al., 2000). De plus, ces activités chitinases sont directement corrélées à la biomasse fongique (Miller et al., 1998 ; Baldrian et al., 2010). Une diminution de ces activités traduirait alors une perte de biomasse fongique dans les placeaux « sols nus » et pourrait constituer un indicateur sensible des impacts induits sur les communautés du sol.

Ces activités métaboliques relèvent des communautés microbiennes, et particulièrement fongiques (Courty et al., 2010). Ainsi, les activités N-acétyl-glucosaminidase, phosphatase et liées au cycle du carbone seraient fortement dépendantes des assemblages saprotrophes (Talbot et al., 2013). Les diminutions de ces activités dans les sols privés de litière pourraient être dues à une modification directe de ces cortèges fongiques qui influencerait leur fonctionnalité. En revanche, les activités impliquées dans le métabolisme du carbone, directement lié à la dégradation des celluloses des litières (β -glucosidases et cellobiohydrolases) ne présentent pas de franches tendances en rapport aux traitements.

Ces tests enzymatiques sont donc à confirmer et à compléter avec une analyse fine de la structure et la richesse spécifique de ces communautés par metabarcoding.

Ces résultats présentent pour la plupart une tendance des retraits de litières et de rémanents à diminuer les activités enzymatiques extracellulaires. Ils sont aussi à évaluer avec précaution du fait notamment de la forte dépendance de ces dosages avec les conditions saisonnières et climatiques. En effet, il a été montré l'importance de la phénologie et de la saisonnalité dans l'expression de activités enzymatique dans les sols (Buée et al. 2005 ; Courty et al., 2007 ; Baldrian et al., 2013). Il serait donc intéressant de suivre ces activités au cours des saisons. D'autre part, ces activités sont fortement influencées par l'humidité du sol, et sont particulièrement inhibées par une sécheresse prolongée pendant la période de végétation (Alster et al., 2013 ; Acosta-Matrinez et al., 2013). La période entre avril et juillet 2015 a été particulièrement sèche. De plus, des mesures régulières d'humidité massique sur le site de Champenoux ont révélé une rétention d'eau notablement moins importante dans les sols nus en comparaison au témoin (figure S3), tout au long de la période avril-septembre 2015. Cette sécheresse pourrait être en partie à l'origine des différences d'expression enzymatique.

5. Conclusion

La mise en œuvre très récente des traitements ne permet pas d'identifier des impacts nets des manipulations de matières organiques à très court terme. En revanche, des tendances peuvent être identifiées à partir d'outils prospectifs comme la spectrométrie infrarouge qui révèlent des indices liées potentiellement à la dégradation des litières et qui répondraient rapidement aux perturbations effectuées. Cet outil, ainsi que l'analyse des potentiels de minéralisation de l'azote, permet d'avancer l'hypothèse que les réponses de l'écosystème différeraient selon l'essence dominante, comme le montre les tendances plus nettes sur les sites chênes. Certains indicateurs du fonctionnement biologique du sol semblent aussi réagir à très court terme au retrait des litières et des menus-bois, notamment ceux impliqués dans la mobilisation de l'azote et du phosphore. Ces résultats préliminaires restent à confirmer par un suivi régulier et une caractérisation complète de la biodiversité microbienne du sol afin d'obtenir une vue d'ensemble des réponses à court terme de l'écosystème sur le plan fonctionnel. Des dosages de marqueurs comme l'ergostérol sont aussi à envisager pour évaluer l'impact des manipulations sur la biomasse fongique des sols.

L'absence d'impact notable des exportations intensifiées de litière et de bois entre 6 et 18 mois après intervention met en évidence une résilience de la fonctionnalité des sols.

6. Références

- Achat, D.L., Deleuze, C., Landmann, G., Pousse, N., Ranger, J., Augusto, L., 2015. Quantifying consequences of removing harvesting residues on forest soils and tree growth – A meta-analysis. *Forest Ecology and Management* 348, 124–141.
- Acosta-Martinez, V., Moore-Kucera, J., Cotton, J., Gardner, T., Wester, D., 2014. Soil enzyme activities during the 2011 Texas record drought/heat wave and implications to biogeochemical cycling and organic matter dynamics. *Applied Soil Ecology* 75, 43–51. doi:10.1016/j.apsoil.2013.10.008
- Adamczyk, B., Adamczyk, S., Kukkola, M., Tamminen, P., Smolander, A., 2015. Logging residue harvest may decrease enzymatic activity of boreal forest soils. *Soil Biology and Biochemistry* 82, 74–80.
- Alster, C.J., German, D.P., Lu, Y., Allison, S.D., 2013. Microbial enzymatic responses to drought and to nitrogen addition in a southern California grassland. *Soil Biology and Biochemistry* 64, 68–79.
- Baldrian, P., Merhautová, V., Petráňková, M., Cajthaml, T., Šnajdr, J., 2010. Distribution of microbial biomass and activity of extracellular enzymes in a hardwood forest soil reflect soil moisture content. *Applied Soil Ecology* 46, 177–182.
- Baldrian, P., Šnajdr, J., Merhautová, V., Dobiášová, P., Cajthaml, T., Valášková, V., 2013. Responses of the extracellular enzyme activities in hardwood forest to soil temperature and seasonality and the potential effects of climate change. *Soil Biology and Biochemistry* 56, 60–68.

- Berg, B., Cortina, J., 1995. Nutrient dynamics in some decomposing leaf and needle litter types in a pinus sylvestris forest. *Scandinavian Journal of Forest Research* 10, 1–11.
- Brandtberg, P.-O., Olsson, B.A., 2012. Changes in the effects of whole-tree harvesting on soil chemistry during. *For. Ecol. Manage.* 277, 150–162
- Buée, M., Vairelles, D., Garbaye, J., 2005. Year-round monitoring of diversity and potential metabolic activity of the ectomycorrhizal community in a beech (*Fagus sylvatica*) forest subjected to two thinning regimes. *Mycorrhiza* 15, 235–245.
- Carter, M.C, Dean, T.J., Zhou, M., Messina, M.G., Wang, Z. 2002 Short-term changes in soil C, N, and biota following harvesting and regeneration of loblolly pine (*Pinus taeda* L.). *Forest Ecology and Management* 164 67-8
- Conn, C., Dighton, J., 2000. Litter quality influences on decomposition, ectomycorrhizal community structure and mycorrhizal root surface acid phosphatase activity. *Soil Biology & Biochemistry* 32 489-96
- Courty, P.-E., Pritsch, K., Schloter, M., Hartmann, A., Garbaye, J., 2005. Activity profiling of ectomycorrhiza communities in two forest soils using multiple enzymatic tests: Methods. *New Phytologist* 167, 309–319.
- Courty, P.-E., Bréda, N., Garbaye, J., 2007. Relation between oak tree phenology and the secretion of organic matter degrading enzymes by *Lactarius quietus* ectomycorrhizas before and during bud break. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 1655–1663.
- Courty, P.-E., Buée, M., Diedhiou, A.G., Frey-Klett, P., Le Tacon, F., Rineau, F., Turpault, M.-P., Uroz, S., Garbaye, J., 2010. The role of ectomycorrhizal communities in forest ecosystem processes: New perspectives and emerging concepts. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 679–698.
- d’Annunzio, R., Zeller, B., Nicolas, M., Dhôte, J.-F., Saint-André, L., 2008. Decomposition of European beech (*Fagus sylvatica*) litter: Combining quality theory and ¹⁵N labelling experiments. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 322–333.
- de Dieu Nzila, J., Bouillet, J.-P., Laclau, J.-P., Ranger, J., 2002. The effects of slash management on nutrient cycling and tree growth in Eucalyptus plantations in the Congo. *Forest Ecology and Management* 171, 209–221.
- Deleuze, C., Morneau, F., Constant, T., Saint-André, L., Bouvet, A., Colin, A., Vallet, V., Gauthier A., Jaeger, M., 2013. Le projet EMERGE pour des tarifs cohérents de volumes et biomasses des essences forestières françaises métropolitaines. *Revue Rendez-vous techniques ONF* 39-40, 32-36
- Kranabetter, J.M., Sanborn, P. 2003. Short-term effects of forest soil compaction and site organic matter removal on mineralizable soil nitrogen in central British Columbia. *Research note, UNBC*
- Ludwig, B., Nitschke, R., Terhoeven-Urselmans, T., Michel, K., Flessa, H., 2008. Use of mid-infrared spectroscopy in the diffuse-reflectance mode for the prediction of the composition of organic matter in soil and litter. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 171, 384–391.
- Mariani, L., Chang, S.X., Kabzems, R., 2006. Effects of tree harvesting, forest floor removal, and compaction on soil microbial biomass, microbial respiration, and N availability in a boreal aspen forest in British Columbia. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 1734–1744.
- Mendham, D., Sankaran, K., O’Connell, A., Grove, T., 2002. Eucalyptus globulus harvest residue management effects on soil carbon and microbial biomass at 1 and 5 years after plantation establishment. *Soil Biology and Biochemistry* 34, 1903–1912.

- Miller, M., Palojarvi, A., Rangger, A., Reeslev, M., Kjøller, A., 1998. The use of fluorogenic substrates to measure fungal presence and activity in soil. *Applied and Environmental Microbiology* 64, 613–617.
- O’Connell, A., 2004. Impact of harvest residue management on soil nitrogen dynamics in Eucalyptus globulus plantations in south western Australia. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 39–48.
- Olsson, B.A., Staaf, H., Lundkvist, H., Bengtsson, J. a, Rosh, K. , 1996. Carbon and nitrogen in coniferous forest soils after clear-felling and harvests of different intensity. *Forest Ecology and Managemen* 82, 19-32
- Olsson, B., 1999. Effects of biomass removal in thinnings and compensatory fertilization on exchangeable base cation pools in acid forest soils. *For. Ecol. Manage.* 122, 29–39.
- Perez-Batallon, P., Ouro, G., Macias, F., Merino, A., 2001. Initial mineralization of organic matter in a forest plantation soil following different logging residue management techniques. *Ann. For. Sci.* 58, 807–818.
- Powers, R., Scott, D., Sanchez, F., Voldseth, R., Page-Dumroese, D., Elioff, J., Stone, D., 2005. The North American long-term soil productivity experiment: Findings from the first decade of research. *For. Ecol. Manage.* 220, 31–50
- Pritsch, K., Raidl, S., Marksteiner, E., Blaschke, H., Agerer, R., Schloter, M., Hartmann, A., 2004. A rapid and highly sensitive method for measuring enzyme activities in single mycorrhizal tips using 4-methylumbelliferone-labelled fluorogenic substrates in a microplate system. *Journal of Microbiological Methods* 58, 233–241.
- Saint-André, L., Laclau, J.P., Deleporte, P., Gava, J.L., Gonçalves, J.L.M., Mendham, D., Nzila, J.D., Smith, C., Du Toit, B., Xu, D.P., others, 2008. Slash and litter management effects on Eucalyptus productivity: a synthesis using a growth and yield modelling approach, in: *Site Management and Productivity in Tropical Plantation Forests: Proceedings of Workshops in Piracicaba (Brazil) 22–26 November 2004 and Bogor (Indonesia), 6–9 November 2006.* pp. 173–189.
- Saint-André, L., Genet, A., Legout, A., Ranger, J., Wernsdörfer, H., Jonard, M., Ponette, Q., Hounzandji, A., Deleuze, C., 2014. Modèles de biomasse et de minéralomasse. Quelles avancées de la recherche? Pour quels usages à terme en gestion? *Revue Rendez-vous techniques* 44, 43-56.
- Sallèles, J., 2014. Étude du devenir de l’azote dérivé des litières dans le sol et dans l’arbre sur le moyen terme dans les forêts de hêtres par traçage isotopique et modélisation. (Thèse de doctorat, Université de Lorraine, FRA).
- Sariyildiz, T., 2003. Interactions between litter quality, decomposition and soil fertility: a laboratory study. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 391–399.
- Sariyildiz, T., Anderson, J.M., 2005. Variation in the chemical composition of green leaves and leaf litters from three deciduous tree species growing on different soil types. *Forest Ecology and Management* 210, 303–319.
- Sayer, E.J., 2005. Using experimental manipulation to assess the roles of leaf litter in the functioning of forest ecosystems. *Biological Reviews* 81, 1.
- Smolander, A., Kitunen, V., Tamminen, P., Kukkola, M., 2010. Removal of logging residue in Norway spruce thinning stands: Long-term changes in organic layer properties. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 1222–1228.

- Swanston, C.W., Myrold, D.D., 1997. Incorporation of nitrogen from decomposing red alder leaves into plants and soil of a recent clearcut in Oregon. *Canadian journal of forest research* 27, 1496–1502.
- Talbot, J.M., Bruns, T.D., Smith, D.P., Branco, S., Glassman, S.I., Erlandson, S., Vilgalys, R., Peay, K.G., 2013. Independent roles of ectomycorrhizal and saprotrophic communities in soil organic matter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry* 57, 282–291.
- Tan, X., Chang, S.X., Kabzems, R., 2005. Effects of soil compaction and forest floor removal on soil microbial properties and N transformations in a boreal forest long-term soil productivity study. *Forest Ecology and Management* 217, 158–170.
- Tatzber, M., Mutsch, F., Mentler, A., Leitgeb, E., Englisch, M., Zehetner, F., Djukic, I., Gerzabek, M.H., 2011. Mid-infrared spectroscopy for topsoil layer identification according to litter type and decompositional stage demonstrated on a large sample set of Austrian forest soils. *Geoderma* 166, 162–170.
- Thiffault, E., Hannam, K.D., Paré, D., Titus, B.D., Hazlett, P.W., Maynard, D.G., Brais, S., 2011. Effects of forest biomass harvesting on soil productivity in boreal and temperate forests — A review. *Environmental Reviews* 19, 278–309.
- Titus, B.D., Roberts, B.A., Deeiung, K.W. 1997. Soil solution concentrations on three white birch sites in central Newfoundland following different harvest intensities. *Biomass and Bioenergy* Vol.13, 313-330.
- Vanguelova, E., Pitman, R., Luro, J., Helmisaari, H.-S., 2010. Long term effects of whole tree harvesting on soil carbon and nutrient sustainability in the UK. *Biogeochemistry* 101, 43–59.
- Weintraub, S.R., Wieder, W.R., Cleveland, C.C., Townsend, A.R., 2013. Organic matter inputs shift soil enzyme activity and allocation patterns in a wet tropical forest. *Biogeochemistry* 114, 313–326.
- Versini, A., Mareschal, L., Matsoumbou, T., Zeller, B., Ranger, J., Laclau, J.-P., 2014. Effects of litter manipulation in a tropical Eucalyptus plantation on leaching of mineral nutrients, dissolved organic nitrogen and dissolved organic carbon. *Geoderma* 232-234, 426–436.
- Zeller, B., Colin-Belgrand, M., Dambrine, E., Martin, F., Bottner, P., 2000. Decomposition of ¹⁵N-labelled beech litter and fate of nitrogen derived from litter in a beech forest. *Oecologia* 123, 550–559.

7. Figures et tables supplémentaires

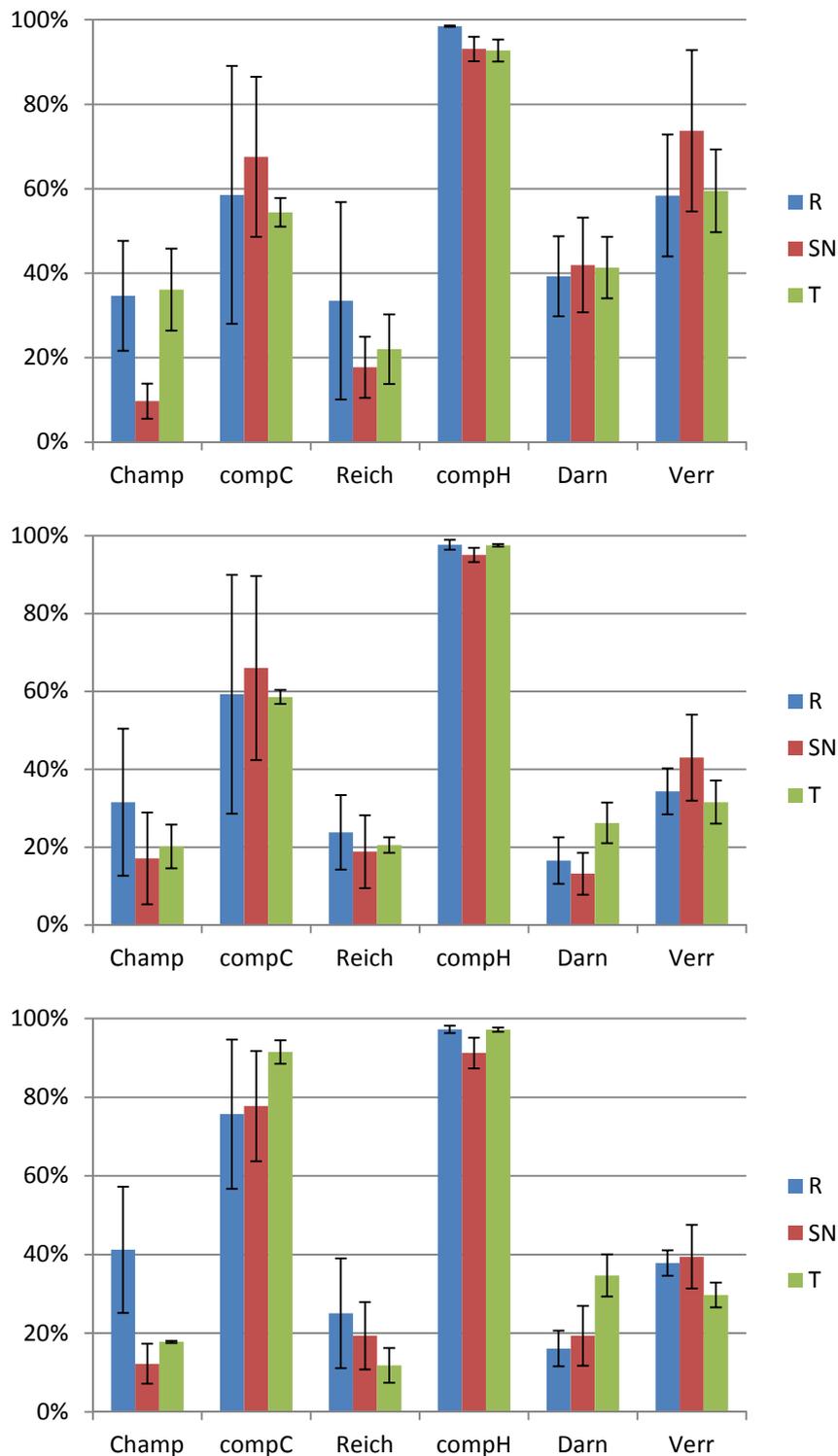


Figure S1 : Pourcentage de nitrate avant incubation pour les 3 sites chênes et les 3 sites hêtres pour les horizons 0-5 cm (a), 5-10 cm (b) et 10-20 cm (c)

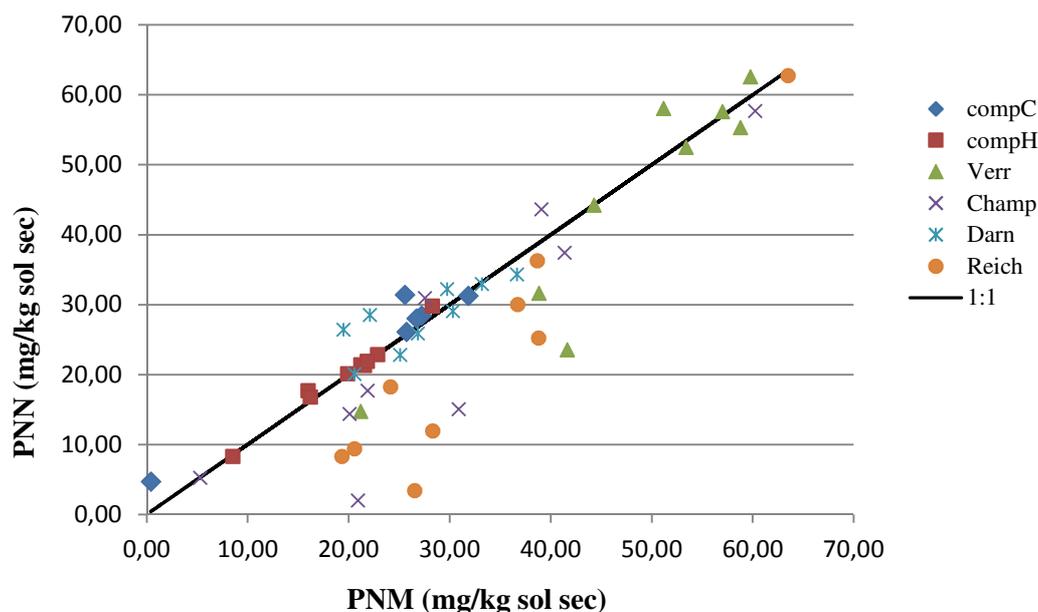


Figure S2 : potentiel de nitrification en fonction du potentiel de minéralisation total (mg/kg de sol sec) pour l'horizon 0-5 cm. Le coefficient de régression est de 0.81.

sites	essence	N total (%)				C total (%)				C/N			
		litière	0-5 cm	5-10 cm	10-20 cm	litière	0-5 cm	5-10 cm	10-20 cm	litière	0-5 cm	5-10 cm	10-20 cm
champ	chêne	1,29	0,29	0,20	0,15	32,48	4,01	2,60	1,99	25,11	13,61	12,78	13,43
compCHE	chêne	1,38	0,17	0,12	0,06	42,96	2,51	1,59	1,12	31,12	14,81	13,43	17,87
reich	chêne	1,23	0,17	0,10	0,07	39,42	2,92	1,68	1,15	32,04	17,39	17,57	16,35
compHET	hêtre	1,30	0,19	0,11	0,07	42,22	2,77	1,39	1,09	32,39	14,90	12,22	16,68
dar	hêtre	1,31	0,19	0,15	0,09	39,01	3,07	2,83	2,18	29,73	16,08	19,10	23,16
verr	hêtre	1,54	0,30	0,18	0,14	42,44	5,48	3,30	2,50	27,62	18,07	18,60	18,02
ban*	hêtre	1,31	0,19	0,14	0,13	39,08	3,34	2,48	2,35	29,97	17,40	17,82	18,63

Table S1 : concentrations en azote et en carbone pour les six sites d'étude pour la litière et les horizons 0-5 cm, 5-10 cm et 10-20 cm ainsi que les rapports C/N. Ces données ont été mesurées sur les sols en 2013 avant mise en place des traitements (cf. chapitre 1). * Le site de Ban d'Harol n'a été échantillonné que dans le cadre des mesures d'activités enzymatiques.

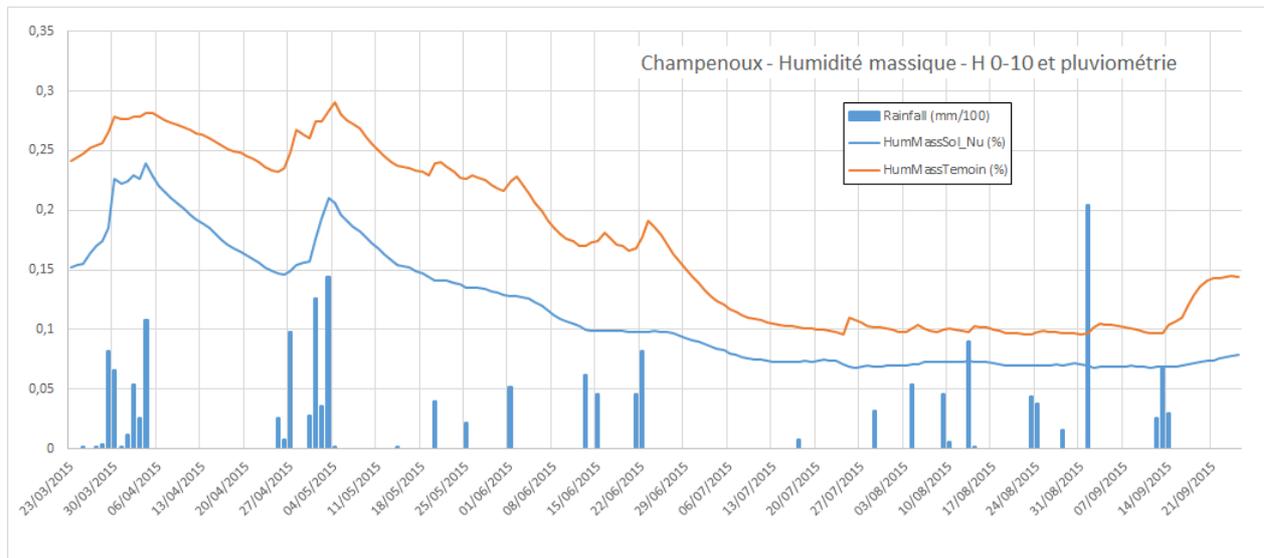


Figure S3 : humidité massique (%) pour la profondeur 0-10 cm dans un placeau « témoin » et un placeau « sol nu » sur le site de Champenoux entre les mois de mars et de septembre 2015. La pluviométrie journalière (mm) a été superposée à l'évolution de l'humidité massique.

CHAPITRE V

La nécromasse fongique peut-elle être une source directe de nutriments pour les arbres forestiers ?

Ce chapitre traitera des réseaux trophiques entre le bois mort, les communautés fongiques et les arbres au sein des écosystèmes forestiers. Habitat essentiel pour de nombreuses espèces lignicoles, le bois mort est une source nutritive essentielle pour divers champignons, au sein duquel pourritures blanches et pourritures brunes agissent de manière complémentaire au cours de sa dégradation (Boddy & Watkinson, 1995). Il a été également rapporté que le bois mort se trouve fortement colonisé par les champignons ectomycorhiziens dans les stades avancés de la décomposition, qui succèdent ainsi aux cortèges de saprotrophes (Rajala et al., 2012 ; Walker et al., 2012).

La détection d'importantes activités chitinolytiques sécrétées par les champignons lignivores présents dans le bois permet de supposer qu'ils dégradent les tissus mycéliens des précédents colonisateurs du bois mort, rendant l'azote à nouveau disponible (Lindahl & Finlay, 2006). L'abondance de nécromasse fongique dans le bois (cordons mycéliens et rhizomorphes de champignons décomposeurs) fournirait alors une source importante de nutriments, potentiellement assimilables par les champignons ectomycorhiziens présents dans le bois mort. De même, de fortes activités chitinases au niveau d'apex ectomycorhiziens dans des débris ligneux laissent suggérer que ces espèces seraient également susceptibles de dégrader et mobiliser directement des nutriments à partir de la nécromasse des champignons décomposeurs, contribuant ainsi à la nutrition des arbres (Buée et al, 2007).

Ces résultats soulèvent la question du rôle du bois mort (dont la quantité en éléments minéraux dans les rémanents est sensiblement du même ordre de grandeur que celle contenue dans les litières foliaires – cf. chapitre IV) et des cortèges lignivores en tant que source nutritive directe pour les arbres forestiers, et plus précisément, et de la mobilisation des nutriments par les champignons symbiotiques. Ces interrogations demeurent particulièrement prégnantes dans le contexte actuel d'intensification des exportations de bois et d'exploitations des rémanents. L'article n°4 tentera de mettre en évidence ce potentiel réseau trophique par marquage isotopique sur un modèle simple arbre/symbionte/nécromasse de lignivore. En conditions contrôlées, l'unique source nutritive apportée à un plant mycorhizé sera constitué de mycélium de champignon saprotrophe mort. Le but est de démontrer qu'un champignon ectomycorhizien est capable de dégrader la chitine d'un décomposeur mort, de mobiliser le carbone et l'azote libérés et de les transférer potentiellement à sa plante-hôte.

1. Le saprotrophisme chez les champignons ectomycorhiziens

1.1 Statut trophique ambivalent des champignons ectomycorhiziens

Le rôle des communautés ectomycorhiziennes dans la régulation de la dynamique des matières organiques du sol et leur capacité de décomposeurs ont été largement mis en évidence ces dernières années (Buée et al., 2005 ; Lindahl et al., 2007 ; Talbot et al., 2008).

Un des outils couramment utilisé pour déterminer le type trophique des champignons est fondé sur l'analyse du ratio isotopique naturel $^{15}\text{N}/^{13}\text{C}$. En effet, saprotrophes et mycorhiziens présentent des signatures isotopiques différentes puisque les champignons ectomycorhiziens sont généralement enrichis en ^{15}N et dépourvus en ^{13}C alors que les décomposeurs sont plus riches en ^{13}C et appauvris en ^{15}N (Hobbie et al., 2001 ; Taylor et al., 2003 ; Zeller et al., 2007; Hobbie & Högberg, 2012). Les analyses isotopiques révélaient des difficultés à déterminer clairement le statut trophique pour des taxons présentant un pattern $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ intermédiaire. Ainsi, la signature naturelle en ^{13}C constitue un outil assez fiable pour identifier le type trophique, même s'il reste ambigu pour certains genres (*Clavulina* et *Helvella* par exemple) qui font état d'une signature isotopique proche de celles des saprotrophes malgré leur statut avéré de mycorhizien (Hobbie et al., 2001 ; Tedersoo et al. 2010).

Les études génomiques réalisées postérieurement ont permis d'identifier chez les champignons symbiotiques ces potentialités de décomposeurs, portées par une présence conséquente de glycoside hydrolases et peroxydases, considérées comme un héritage de leurs ancêtres saprotrophes (Lindahl & Tunlid, 2015). Ce saprotrophisme « facultatif » des espèces ectomycorhiziennes serait essentiellement induit dans le cas d'une faible ressource carbonée, due à l'absence de plante-hôte ou à un transfert insuffisant de carbone de la part de cette dernière.

1.2 Saprotrophie facultative saisonnière

L'étude de Buée et al. (2005) met en évidence une forte activité métabolique des ectomycorhizes durant la période hivernale, suggérant une activité saprotrophe des champignons symbiotiques pour pallier l'absence de photosynthèse. De même, le suivi des activités polyphénol oxydases fongiques au cours de l'année révèle une saisonnalité corrélée avec la phénologie des arbres (Buée, communication personnelle). Ainsi, des pics d'activités enzymatiques liées à la dégradation des litières et à l'acquisition du carbone (xylosidase, laccase, cellobiohydrolase, β -glucosidase) sont détectés aux périodes où les sucres issus de la

photosynthèse ne sont pas encore disponibles, notamment avant le débourrement (Courty et al., 2007). Il a même été supposé que cette optimisation de la mobilisation du carbone par certains champignons ectomycorhiziens pourrait pourvoir l'arbre en carbone lors de la reprise de végétation, offrant un trait myco-hétérotrophe à ces plantes (Courty et al., 2007). Mais, ces observations *in situ* doivent être considérées avec vigilance, car les activités enzymatiques dans la litière et les horizons supérieurs du sol sont aussi corrélées aux variations saisonnières de température et de pluviométrie (Baldrian et al., 2013).

1.3 Saprotrrophie *in vitro* et en conditions de stress nutritif

Le caractère saprotrophe de certaines espèces ectomycorhiziennes a pu être illustré en conditions *in vitro*. Ainsi, il a été démontré que l'ectomycorhizien *Tricholoma mastutake* pouvait assimiler le carbone issu de la dégradation d'hémicelluloses, apportées comme unique source de nutriments (Vaario et al., 2012). D'autres champignons mycorhiziens présentent une stratégie trophique mixte comme *Paxillus involutus* qui, en conditions contrôlées, exprime des capacités saprotrophiques, notamment en utilisant des composés d'origine végétale comme source nutritive (Dighton, 1991 ; Cairney & Burke, 1994). Les fortes activités laccases et oxydases (effet Fenton) mesurées révélèrent qu'il est capable de dégrader des composés organiques complexes de type polysaccharides et polyphénols issus de litières végétales en faisant appel à un mécanisme de dégradation des matières organiques semblable à celui des pourritures brunes (Rineau et al., 2012). En revanche, l'analyse des transcrits supposait l'absence de l'équipement enzymatique nécessaire au métabolisme des sucres obtenus, que *Paxillus involutus* ne pourrait donc pas assimiler directement.

Même en conditions contrôlées, la saprotrophie des champignons mycorhiziens semble directement déterminée par la disponibilité de la ressource en carbone. Chez *Paxillus involutus*, la disponibilité en carbone régule l'expression des gènes codant les familles d'enzymes qui clivent les complexes « carbohydrates » (Levasseur et al., 2013), et potentiellement impliqués dans les processus de dégradation des litières et d'assimilation de l'azote (Rineau et al., 2013). La sécrétion d'enzymes oxydases et peptidases responsables de l'oxydation des polyphénols et polysaccharides ainsi que l'induction des transporteurs d'azote sont donc régulées par la disponibilité en carbone dans le milieu, conditionnant de cette façon la stratégie saprotrophe du champignon ectomycorhizien. Une autre étude récente associant approches enzymatiques et transcriptomiques confirme qu'en cas de ressource en carbone insuffisante, *Paxillus involutus* induit les gènes codant pour les enzymes extracellulaires comme des chitinases, oxydases (laccase), des hydrolases et transférases (Ellström et al.,

2015). Les activités protéases deviennent d'autant plus importantes que la ressource carbonée est faible. De plus, de l'ammonium et des composés organiques azotés sont libérés dans le milieu et les transcrits des transporteurs d'azote se trouvent fortement induits. Ces résultats suggèrent qu'en cas de privation de carbone, des mécanismes d'autophagie et/ou résorption de composés d'origine mycélienne peuvent être impliqués pour pallier le manque de ressources.

2. Capacités chitinolytiques des champignons

2.1 La chitine et ses voies de dégradation

La chitine est un homopolymère de N-acétyl-glucosamine lié par liaisons β -(1,4), constituant structurel de différents organismes comme les crustacés, les insectes ou les champignons (Beier & Bertilsson, 2013). C'est le polysaccharide le plus abondant après la cellulose (Karthik et al., 2014). La paroi cellulaire des hyphes des champignons filamenteux est constituée de plus de 20% de chitine et de β -glucanes (Hartl et al., 2012). De nombreux microorganismes, archées, bactéries et champignons sont pourvus d'un équipement enzymatique destiné à la dégradation de la chitine, à des fins saprotrophique ou parasitiques, comme les entomopathogènes ou mycoparasites (Seidl, 2008 ; Beier & Bertilsson, 2013).

Il existe deux grands types d'enzymes chitinolytiques, au fonctionnement différent. La N-acétyl-glucosaminidase catalyse l'hydrolyse de l'extrémité non réductrice de N-acétyl-glucosamine des résidus de chitine, amenant à la libération de monomères (Seidl, 2008). Les chitinases décomposent la chitine en polymères de N-acétyl-glucosamine par processus d'acétylation/aminisation en agissant en tant d'endo- ou exo-chitinases (Hartl et al., 2012 ; Beier & Bertilsson, 2013). La désacétylation de la chitine conduit à la production de chitosane, un dérivé polymérique de N-acétyl-glucosamine et de D-glucosamine (Hartl et al., 2012). Cet hétéropolymère est lui-même dégradé par des enzymes de type chitosanase et désaminase, sa désamination entraînant la production de cellulose (Beier & Bertilsson, 2013) (figure V.1).

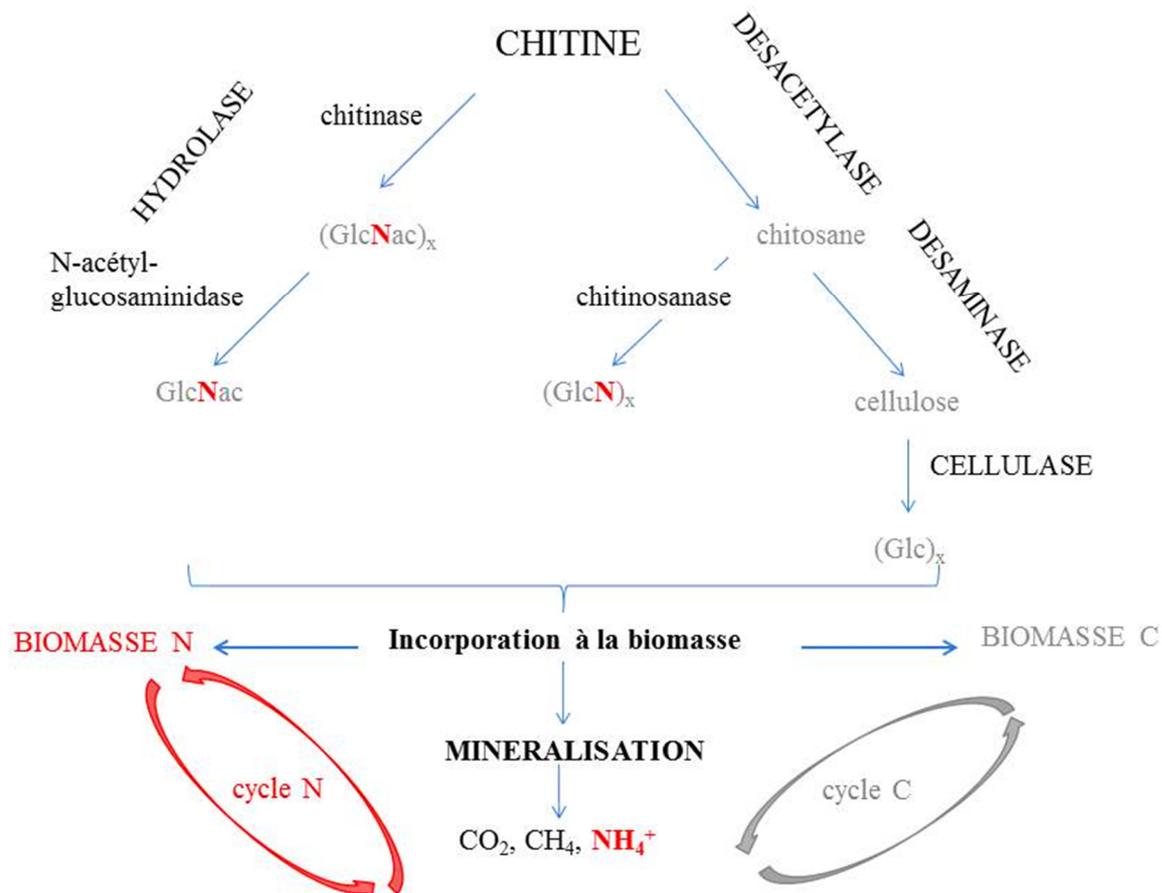


Figure V.1 : Voies possibles de dégradation et de métabolisme de la chitine et de ses dérivés, modifié d'après Beier & Bertilsson, 2013. (Glc= glucose, GlcN= glucosamine, GlcNac= N-acétyl-glucosamine)

Les chitinases fongiques appartiennent à la famille GH18 des glucosides hydrolases (Seidl, 2008).

2.2 Utilisation de la chitine comme source de nutriments par les champignons

Les capacités des champignons à dégrader la chitine ont d'abord été étudiées chez certaines espèces non-symbiotiques, en particulier chez les saprotrophes inféodés aux sols très acides des peuplements résineux en zone boréale. Sur soixante champignons non-mycorhiziens isolés dans ces sols, peu de genres se sont révélés capables de dégrader la chitine, et les espèces présentant des activités chitinolytiques correspondaient à des champignons adaptés aux tourbières (Baath & Soderström, 1980). Ainsi, ces espèces étaient capables de mobiliser l'azote principalement présent sous forme de polymères organiques complexes dans les sols acides pourvus d'un horizon organique épais (Leake & Read, 1990). Les composés mycéliens sont très rapidement dégradés et incorporés par les champignons du sol (Drigo et al., 2012).

La chitine et ses dérivés constituent donc une source de carbone labile facilement mobilisable par les microorganismes du sol.

Plusieurs études réalisées *in vitro* ont mis en évidence que les champignons utilisaient la chitine comme source d'azote, notamment lorsque les ressources sont limitées. Leake & Read (1990) ont testé les capacités chitinolytiques de plusieurs souches ectomycorhiziennes et éricoïdes en suivant leur croissance en biomasse quand la chitine représentait l'unique apport d'azote. Les trois espèces éricoïdes s'étaient fortement développées alors que la masse mycélienne des souches ECM avait augmenté de façon peu significative. Ces résultats suggéraient que les champignons ECM présentaient un potentiel chitinolytique beaucoup moins efficace que les espèces éricoïdes. Néanmoins, la chitine utilisée pour l'expérience n'était pas d'origine fongique. Ces processus de dégradation des composés mycéliens en cas de ressource nutritive limitée ont été démontrés chez différentes espèces. Ils prennent alors la forme d'autophagie, comme chez certains Ascomycètes du genre *Aspergillus* qui induisent fortement la transcription de gènes codant des enzymes de type chitinase en cas de manque de carbone dans leur milieu (Nitsche et al., 2012). Des mécanismes similaires ont été observés chez *Paxillus involutus*, ce qui laisse supposer un phénomène de recyclage des composés mycéliens (Ellström et al., 2015).

Enfin, il a été mis en évidence en 1996 par Hodge et al. que la présence de chitine induisait, en conditions contrôlées, une augmentation de la croissance mycélienne sur la plupart des espèces mycorhiziennes testées, dont *Paxillus involutus*. Une partie du carbone provenant de la chitine était incorporée dans la paroi cellulaire des champignons et les auteurs concluaient que la présence de chitine comme ressource éventuelle nutritive modifiait le schéma d'allocation du carbone pour ces champignons.

3. Références

- Baldrian, P., Šnajdr, J., Merhautová, V., Dobiášová, P., Cajthaml, T., Valášková, V., 2013. Responses of the extracellular enzyme activities in hardwood forest to soil temperature and seasonality and the potential effects of climate change. *Soil Biology and Biochemistry* 56, 60–68.
- Beier, S., Bertilsson, S., 2013. Bacterial chitin degradation-mechanisms and ecophysiological strategies. *Frontiers in Microbiology* 4.
- Boddy, L., Watkinson, S.C., 1995. Wood decomposition, higher fungi, and their role in nutrient redistribution. *Can. J. Bot.* 73, 1377–1383.
- Buée, M., Vairelles, D., Garbaye, J., 2005. Year-round monitoring of diversity and potential metabolic activity of the ectomycorrhizal community in a beech (*Fagus sylvatica*) forest subjected to two thinning regimes. *Mycorrhiza* 15, 235–245.
- Buée, M., Courty, P.E., Mignot, D., Garbaye, J., 2007. Soil niche effect on species diversity and catabolic activities in an ectomycorrhizal fungal community. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 1947–1955.
- Cairney, J.W.G., Burke, R.M., 1994. Fungal enzymes degrading plant cell walls: their possible significance in the ectomycorrhizal symbiosis. *Mycological Research* 98, 1345–1356.
- Courty, P.-E., Bréda, N., Garbaye, J., 2007. Relation between oak tree phenology and the secretion of organic matter degrading enzymes by *Lactarius quietus* ectomycorrhizas before and during bud break. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 1655–1663.
- Dighton, J., 1991. Acquisition of nutrients from organic resources by mycorrhizal autotrophic plants. *Experientia* 47, 362–369.
- Drigo, B., Anderson, I.C., Kannangara, G.S.K., Cairney, J.W.G., Johnson, D., 2012. Rapid incorporation of carbon from ectomycorrhizal mycelial necromass into soil fungal communities. *Soil Biology and Biochemistry* 49, 4–10.
- Ellstrom, M., Shah, F., Johansson, T., Ahren, D., Persson, P., Tunlid, A., 2015. The carbon starvation response of the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*. *FEMS Microbiology Ecology* 91, fiv027–fiv027.
- Hartl, L., Zach, S., Seidl-Seiboth, V., 2012. Fungal chitinases: diversity, mechanistic properties and biotechnological potential. *Applied Microbiology and Biotechnology* 93, 533–543.
- Hobbie, E.A., Weber, N.S., Trappe, J.M., 2001. Mycorrhizal vs saprotrophic status of fungi: the isotopic evidence. *New Phytologist* 150, 601–610.
- Hobbie, E.A., Högberg, P., 2012. Nitrogen isotopes link mycorrhizal fungi and plants to nitrogen dynamics. *New Phytologist* 196, 367–382.
- Hodge, A., Alexander, I.J., Gooday, G.W., Killham, K., 1996. Carbon allocation patterns in fungi in the presence of chitin in the external medium. *Mycological Research* 100, 1428–1430.
- Karthik, N., Akanksha, K., Binod, P., Pandey, A., 2014. Production, purification and properties of fungal chitinases-A review. *Indian Journal of Experimental Biology*, Vol. 52, 1025-1035
- Leake, J.R., Read, D.J., 1990. Chitin as a nitrogen source for mycorrhizal fungi. *Mycological Research* 94 (7):993-995.

- Levasseur, A., Drula, E., Lombard, V., Coutinho, P.M., Henrissat, B., 2013. Expansion of the enzymatic repertoire of the CAZy database to integrate auxiliary redox enzymes. *Biotechnol Biofuels* 6, 41.
- Lindahl, B.D., Finlay, R.D., 2006. Activities of chitinolytic enzymes during primary and secondary colonization of wood by basidiomycetous fungi. *New Phytologist* 169, 389–397.
- Lindahl, B.D., Ihrmark, K., Boberg, J., Trumbore, S.E., Högberg, P., Stenlid, J., Finlay, R.D., 2007. Spatial separation of litter decomposition and mycorrhizal nitrogen uptake in a boreal forest. *New Phytologist* 173, 611–620.
- Lindahl, B.D., Tunlid, A., 2015. Ectomycorrhizal fungi - potential organic matter decomposers, yet not saprotrophs. *New Phytologist* 205, 1443–1447.
- Nitsche, B.M., Jørgensen, T.R., Akeroyd, M., Meyer, V., Ram, A.F., 2012. The carbon starvation response of *Aspergillus niger* during submerged cultivation: insights from the transcriptome and secretome. *BMC genomics* 13, 380.
- Rajala, T., Peltoniemi, M., Pennanen, T., Mäkipää, R., 2012. Fungal community dynamics in relation to substrate quality of decaying Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) logs in boreal forests. *FEMS Microbiology Ecology* 81, 494–505.
- Rineau, F., Roth, D., Shah, F., Smits, M., Johansson, T., Canbäck, B., Olsen, P.B., Persson, P., Grell, M.N., Lindquist, E., Grigoriev, I.V., Lange, L., Tunlid, A., 2012. The ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* converts organic matter in plant litter using a trimmed brown-rot mechanism involving Fenton chemistry: Organic matter degradation by ectomycorrhizal fungi. *Environmental Microbiology* 14, 1477–1487.
- Rineau, F., Shah, F., Smits, M.M., Persson, P., Johansson, T., Carleer, R., Troein, C., Tunlid, A., 2013. Carbon availability triggers the decomposition of plant litter and assimilation of nitrogen by an ectomycorrhizal fungus. *The ISME journal* 7, 2010–2022.
- Seidl, V., 2008. Chitinases of filamentous fungi: a large group of diverse proteins with multiple physiological functions. *Fungal Biology Reviews* 22, 36–42
- Smith, S.E., Read, D.J., 2010. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press.
- Talbot, J.M., Allison, S.D., Treseder, K.K., 2008. Decomposers in disguise: mycorrhizal fungi as regulators of soil C dynamics in ecosystems under global change. *Functional Ecology* 22, 955–963.
- Taylor, A.F.S., Fransson, P.M., Högberg, P., Högberg, M.N., Plamboeck, A.H., 2003. Species level patterns in ¹³C and ¹⁵N abundance of ectomycorrhizal and saprotrophic fungal sporocarps. *New Phytologist* 159, 757–774.
- Vaario, L.-M., Heinonsalo, J., Spetz, P., Pennanen, T., Heinonen, J., Tervahauta, A., Fritze, H., 2012. The ectomycorrhizal fungus *Tricholoma matsutake* is a facultative saprotroph in vitro. *Mycorrhiza* 22, 409–418.
- Walker, J.K.M., Ward, V., Paterson, C., Jones, M.D., 2012. Coarse woody debris retention in subalpine clearcuts affects ectomycorrhizal root tip community structure within fifteen years of harvest. *Applied Soil Ecology* 60, 5–15.
- Zeller, B., Brechet, C., Maurice, J.-P., Le Tacon, F., 2007. ¹³C and ¹⁵N isotopic fractionation in trees, soils and fungi in a natural forest stand and a Norway spruce plantation. *Annals of Forest Science* 64, 419–429.

4. Article n°4: Can the fungal necromass be a direct source of nutrients for forest trees?

Article en préparation

Emila Akroume^{1ab, 2,4}, Cyrille Bach^{1ab}, Christian Hossan⁴, Claude Brechet⁴, Nicolas Angeli⁴, Bernd Zeller², Laurent Saint-André², Marc Buée^{1ab}

1 (a) INRA, UMR1136 Interactions Arbres-Microorganismes, F-54280 Champenoux, France (b) Université de Lorraine, UMR1136 Interactions Arbres-Microorganismes, F-54500 Vandoeuvre-lès-Nancy, France; 2 INRA UR 1138 Biogéochimie des Ecosystèmes Forestiers, Centre INRA de Nancy, Champenoux ; 3 INRA UMR1137 Ecologie et Ecophysiologie Forestière, Centre INRA de Nancy, Champenoux ; 4 AgroParisTech, Centre de Nancy, F-54000 Nancy

Abstract

In temperate forests, dead wood is a relevant source of nutrients for lignolytic fungi, but it exhibits also an important abundance of ectomycorrhizal (ECM) species in the late decay stages. Consecutively, it has been suggested that ECM fungi could act like facultative saprobes, especially by degrading the necromass of lignolytic fungi in decaying wood. The aim of this study is to investigate this potential capacity of an ECM fungus, *Paxillus involutus*, to mobilize nutrients (nitrogen and/or carbon) from the chitin of dead saprotrophic fungus, *Postia placenta*, and to transfer them to his host-plant. First, we tested the chitinolytic capacity of different ECM fungi in presence of fungal necromass through N-acetylglucosaminidase measurements. Then, we worked in controlled conditions, with a simple model constituted by the lignolytic fungus necromass (*P. placenta*), the ECM fungus *P. involutus* and a host plant, *Pinus sylvestris*. The transfers were put forward by labelling the fungal necromass with ¹⁵N/ ¹³C and the isotopic labelling was measured within the different compartments of the mycorrhized plant. The significant labelling of the *Paxillus involutus* mycelium showed that it mobilized C and N from the necromass of *Postia placenta*. The high ¹⁵N enrichment of the different parts of the host-plant revealed that carbon remains mainly in the ECM fungal compartment and proved that the ECM fungus transferred only N from the necromass to the tree. Finally, a light presence of labelled C in the roots and the aboveground of the tree suggested a residual transfer of C from the ectomycorrhizal fungus to his host. All these results demonstrate that dead mycelium can be a nutrient source for the ECM fungus and the associated host tree.

1 Introduction

In temperate forest ecosystems, wood decaying fungi are relevant actors of the degradation of wood and litter for mobilizing carbon (Gilbertson, 1980) and recycling of the major nutrients (Watkinson et al., 2006). However, the ectomycorrhizal (ECM) fungi exchange soil-derived nutrients for carbohydrates from the host tree. These symbiotic fungi are highly efficient to explore the soil and mobilize nutrients, particularly organic sources which would not be directly available to the plant (Smith & Read, 2008). Nevertheless, in strongly decayed woody debris, ectomycorrhizal fungi (ECM) are also abundant (Tedersoo et al., 2003; Walker et al. 2012). In the final phase of wood decaying process, they can represent 80% of the identified species (Rajala et al., 2012). Consequently, a recurrent problem in fungal ecology is to establish the trophic status of species in the field. The capacities of some ECM fungi to live as facultative saprotrophes, and so to mobilize nutrients from organic matter, have been suggested in different studies (Durall et al., 1994; Buée et al., 2005; Courty et al., 2007; Lindahl & Finlay, 2006; Talbot et al., 2008; Lindahl & Tunlid, 2015). Some symbiotic species have shown saprophytic capacities in controlled conditions. *In vitro*, *Tricholoma mastutake*, an ectomycorrhizal fungus, is able to secrete hemicellulolytic enzymes, and present a flexible trophic ecology (Vaario et al., 2002). Another study showed that the ECM fungi *Paxillus involutus* would be able to degrade complex organic matter from leaf litter and it has the potential to mobilize organic carbon with a mechanism close to brown-rot fungi capacity (Rineau et al. 2012).

More precisely, it were suggested that certain ectomycorrhizal fungi colonized dead wood and could participate to the degradation of the lignolytic fungi necromass (Buée et al. 2007). This hypothesis was founded on the chitinolytic activities strongly secreted by the ectomycorrhizal tips colonizing the dead wood previously degraded by lignolytic fungi (Buée et al. 2007; Lindahl et al., 2007; Rajala et al., 2012). The chitinolytic capacities of mycorrhizal fungi have been already proved *in vitro* by quantifying the mycelium growth of diverse ericoid and ectomycorrhizal strains with chitin as the sole source of nitrogen (Leake & Read, 1990). It showed that the ericoid fungi were able to degrade chitin and to assimilate the released nitrogen whereas ECM fungi used it more moderately. In controlled conditions, Mucha et al. (2006) reported that alive mycelia of saprotrophic fungi induced chitinase activities in certain ECM fungi. Moreover, Lindahl & Taylor (2004) reported the large occurrence of N-acetylhexosaminidase-encoding genes in ectomycorrhizal fungi.

Using isotopic tracing, the aim of our study is to bring out some eventual capacities of ectomycorrhizal fungi to mobilize carbon and nitrogen, as major constituents of the necromass of lignolytic fungi, and then to transfer them to the mycorrhized host plant. A preliminary experiment has been also carried out to put forward the chitinase activity of ECM fungi in presence of fungal necromass. It would emphasize that decayed wood and saprotroph fungi are a direct source of nitrogen and carbon for forest trees through the mycorrhizal symbiosis.

2 Materials and method

2.1 Experimental design

We worked on a system host plant, symbiotic fungus and wood-decaying fungus grown in controlled conditions in sterilized and hermetically closed Magenta boxes. The Magentas boxes were filled with 170 mL of perlite, an inert mineral substrate poorly enriched in carbon (0.03%) and nitrogen (0.006%).

The nutrient transfers were highlighted by a ^{15}N and ^{13}C enrichment of the saprotroph necromass. Two conditions were tested: (i) mycorrhized plant associated with the ECM fungi in presence of ^{13}C and ^{15}N labelled mycelium of saprotrophic fungi, (ii) mycorrhized plant associated with the ECM fungi in presence of unlabelled mycelium of saprotrophic fungi (control).

A supplemental condition was added to verify if there could be an exchange of labelled elements within the magenta atmosphere (Figure 1). The objective is to check if ^{13}C was mineralized into $^{13}\text{CO}_2$, ultimate step of organic carbon oxidation. Two Magentas with a non-mycorrhized tree were connected to another magenta box of condition (i). For this last condition, the concentrations of ^{15}N and ^{13}C were measured into the needles of the non-mycorrhized trees.

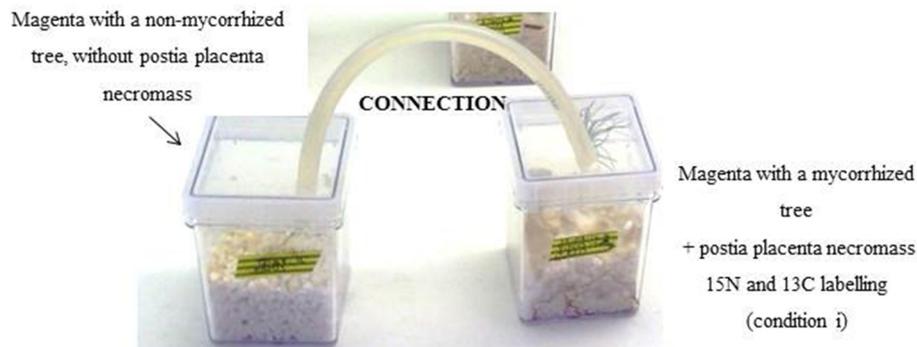


Figure 1 Experimental design to check ^{13}C mineralization into $^{13}\text{CO}_2$. A Magenta with a single non-mycorrhized tree were connected with a magenta of condition (i).

2.2 Preliminary experiments: choice of the fungal material

The objective of the preliminary experiment was to test the ability of ECM fungi to grow on medium with necromass of lignolytic fungus as unique C and N sources. We measured the growth and the chitinolytic activities of three ECM fungi (*Tomentella sublilacina*, *Laccaria bicolor*, *Thelephora terrestris*) cultivated in presence of different wood-decaying fungi: three white-rots fungi (*Trametes versicolor*, *Stereum hirsutum*, *Heterobasidion annosum*) and two brown-rots were tested (*Postia placenta*, *Piptoporus betulinus*).

In a second step, we tested the chitinase activities of three ECM fungal models in presence of the wood-decaying fungus selected by the first step experiment: *Postia placenta*. The aim was to select a well-known ECM fungus, efficient for the controlled mycorrhization experiment, and we measured the activities of *Laccaria bicolor*, *Paxillus involutus* and *Scleroderma citrinum* presence of *Postia placenta* mycelium.

2.2.1 Culture of fungal material for the preliminary experiments

For the measures of ECM radial growths in presence of lignolytic fungi necromass, the experiment was carried out on solid medium in Petri dishes. The medium contained: KH_2PO_4 (1g. l^{-1}), $\text{MgSO}_4 (\text{H}_2\text{O})_7$ (0.5g. l^{-1}), D-glucose (1g. l^{-1}), agar (15g. l^{-1}). The only source of nitrogen was brought by 0.130g of lignolytic fungi necromass. In the second step, for the measures of chitinolytic activities, the selected saprotrophic fungus was cultivated in rich liquid medium composed with malt (10g.l^{-1}) and yeast extract (1g.l^{-1}) in 250 ml Erlenmeyer. The ECM strains were cultivated on Pachlewski medium: KH_2PO_4 (1g. l^{-1}), di- NH_4 -tartrate (0.5g. l^{-1}), $\text{MgSO}_4 (\text{H}_2\text{O})_7$ (0.5g. l^{-1}), D-maltose (5g. l^{-1}), D-glucose (20g.l^{-1}), thiamine ($100\mu\text{l.l}^{-1}$), Kanieltra (1ml.l^{-1}). Mycelia were filtered and rinsed with sterile distilled water, then lyophilized before use.

2.2.2 Measures of chitinase activities

The chitinolytic capacities of ECM fungi were evaluated in presence of saprotrophic necromass, which were obtained after filtering, grinding and lyophilizing the mycelium of each saprotrophic fungus. The ECM fungi were then cultivated in 5ml of a minimal liquid medium composed by $\text{MnCl}_2 (\text{H}_2\text{O})_4$ (6mg.l^{-1}), H_3BO_3 (1.5 mg.l^{-1}), $\text{ZnSO}_4(\text{H}_2\text{O})_7$ (2.65 g.l^{-1}), KI (0.7g.l^{-1}), $\text{Na}_2\text{MoO}_4 (\text{H}_2\text{O})_2$ (0.0024 g.l^{-1}), $\text{CuSO}_4 (\text{H}_2\text{O})_5$ (0.13 g.l^{-1}) and KCl (65 mg.l^{-1}). We added 10 mg of the necromass powder in the 5ml of liquid medium and put in incubation chamber during eleven days at 24°C .

Chitinase activities were measured with enzymatic fluorescence microplate assays adapted from Pritsch et al. (2004). $100\mu\text{l}$ of the supernatant of ECM medium were incubated with $100\mu\text{l}$ of chitinase substrate, MU-N-acetyl- β -D-glucosaminide, diluted in acetate buffer ($\text{pH}=4.5$). After 50 min incubation at 23°C , $100\mu\text{l}$ of stopping buffer were added, the solutions were centrifuged (5000G) and $100\mu\text{l}$ of the supernatant were put in reading plates. Measurements were carried out with the microplate reader Victor3 (Wallac Perkin–Elmer Life Sciences, Villebon-Sur-Yvette, France). The measured fluorescence was evaluated in Arbitrary Unit.

2.3 Isotopic labelling experiment

2.3.1 Plant and fungal material

For the controlled mycorrhization experiment, we choose the couple *Paxillus involutus* (strain ATCC 200175) and the scots pine (*Pinus sylvestris*), as plant model, for their rapid growth and their affinity to establish a symbiotic interaction in controlled conditions. Scots pine seeds were sterilized with 50% hydrogen peroxide (H_2O_2) for 30 min and rinsed in distilled water. The seeds were sown on Petri agar plates (agar 10g.l^{-1}) and left to germinate at 20°C under a 16-hours photoperiod (Heller et al. 2008). After seven days of pre-germination, the Scots pine seedlings were transferred onto magenta boxes in which the sterile perlite substrate were previously colonized by hyphae of *P. involutus*. 70 mL of MMN liquid medium were added at the same time to facilitate the growth of the two partners. These operations were done under sterile conditions.

2.3.2 Culture of fungal material

Then, the selected ECM fungus was cultivated in Petri dishes on MMN medium: 10 ml.l^{-1} of KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, $\text{CaCl}_2 (\text{H}_2\text{O})_2$, NaCl , $\text{MgSO}_4 (\text{H}_2\text{O})_2$, thiamine ($100\mu\text{l.l}^{-1}$), FeCl_3

(H₂O)₆ (100μl.l⁻¹), Agar (15g.l⁻¹). The perlite substrate was then inoculated with 4 agar plugs colonized by *Paxillus involutus* in each Magenta box. Each plug area was 1cm x 1cm.

The brown-rot fungus retained was cultivated on liquid medium composed by: NH₄ Sulfate (3g.l⁻¹), Phosphate K (2g.l⁻¹), Sulfate Magnesium (0.5g.l⁻¹), thiamine HCl (1mg.l⁻¹), glucose (7g.l⁻¹), micro-elements (1ml.l⁻¹). The microelements contained: MnCl₂ (H₂O)₄ (6mg.l⁻¹), H₃BO₃ (1.5 mg.l⁻¹), ZnSO₄(H₂O)₇ (2.65 g.l⁻¹), KI (0.7g.l⁻¹), Na₂MoO₄ (H₂O)₂ (0.0024 g.l⁻¹), CuSO₄ (H₂O)₅ (0.13 g.l⁻¹).

2.3.3 Production of labelled necromass of saprotrophic fungi

To produce saprotrophic fungus biomass enriched in ¹⁵N and ¹³C, some inoculum were cultivated in presence of ammonium enriched with ¹⁵N and glucose enriched with ¹³C (only the C1 of glucose was labelled) to obtain a final isotopic abundance of 2% atom of ¹⁵N and 15% atom for ¹³C. Two independent liters were prepared, in order to get one solution of liquid medium with a homogenous ¹³C/¹⁵N labelling. The produced biomass was then lyophilized, grinded and incorporated into agar plugs with a concentration of 0.5g of *P.placenta* for 100mL. This material has been used as a patch of organic matter, composed exclusively of brown root fungus necromass, for isotopic experiments.

2.3.4 Mycorrhization and incorporation of the brown-rot fungi necromass

The Magenta boxes were incubated at 20°C with a photoperiod of 16 hours light. After 4 months of incubation, the development of abundant lateral roots was observed on the pines inoculated with *P. involutus* and the formation of first mycorrhizae was suspected. Fungal necromass was introduced in magenta boxes under sterile conditions. Each magenta box received 4 necromass patches, which brought approximatively 30 mg of dry biomass per box. It provided two treatments: a “labelled” condition where the patches contained labelled ¹³C and ¹⁵N fungal necromass and a control condition with unlabelled patches. In the labelled condition, 8 μg of ¹⁵N and 128.7 μg of ¹³C were introduced in excess in each Magenta.

2.3.5 Isotopic measurement

Percent C and N and isotopic composition were determined using an online continuous flow CN analyser (Carlo Erba NA1500) coupled with an isotope ratio mass spectrometer (Finnigan delta S). Values were reported in the standard notation ($\delta^{13}\text{C} \text{‰}$ and $\delta^{15}\text{N} \text{‰}$) relative to Pee-Dee Belemnite for C, using PEF (IAEA-CH-7) as a standard, and relative to atmospheric N₂ for N, using (NH₄)₂SO₄ (IAEA-N-1) as a standard. $\delta X = (R_{\text{sample}}/R_{\text{standard}}) - 1 \times 1000$, where

R is the molar ratio $^{heavy}X/^{light}X$. The isotopic enrichment was measured in five pine seedlings, which received enriched agar patches, and in five control plants, at the end of an incubation period of six months after the introduction of the labelled material. The measures were carried out in four compartments: needles, stem, mycorrhized roots and the perlite medium colonized by mycelium. The isotopic enrichment was also quantified in the agar patches which contained the saprotrophic fungi necromass before and after consumption by the ectomycorrhizal fungi. It corresponds to a reference value for the quantity of ^{15}N and ^{13}C , which was introduced in each magenta.

2.4 Statistics

Statistical analyses were done with the R software. The variables were the quantities and excesses of labelled carbon and labelled nitrogen in roots, stems and needles. They were treated by ANOVA with R software. The threshold of significance was fixed for $pval=0.05$.

3 Results

3.1 Chitinase activities and choice of the couple ECM/saprotrophic fungi

The preliminary experiment in solid medium revealed that the presence of necromass enhanced the radial growth for the three ectomycorrhizal fungi *Tomentella sublilacina*, *Laccaria bicolor*, *Thelephora terrestris*. For all ECM fungi, the strongest growth was observed when *Postia placenta* necromass was added in the medium. In addition, the three ECM fungi expressed the highest chitinolytic activities in presence of *Postia placenta* (data not shown). The brown-rot *Postia placenta*, strain PP978 appeared as the more efficient lignolytic fungus for the following experiments.

On a second time, the chitinase activities in presence of *Postia placenta* necromass were measured in liquid medium with the three ECM species *Laccaria bicolor*, *Paxillus involutus* and *Scleroderma citrinum*. These fungi exhibited also high N-acetyl-glucosaminidase activities (figure 2). *Paxillus involutus* also exhibited the fastest growth capacity on the perlite substrate and its mycorrhization process is well controlled *in vitro*.

By considering the biomass production, the potential chitinase activity and the mycorrhization efficiency, the "biological complex *Paxillus involutus* / *Pinus sylvestris* / *Postia placenta*" was retained for the following experiment.

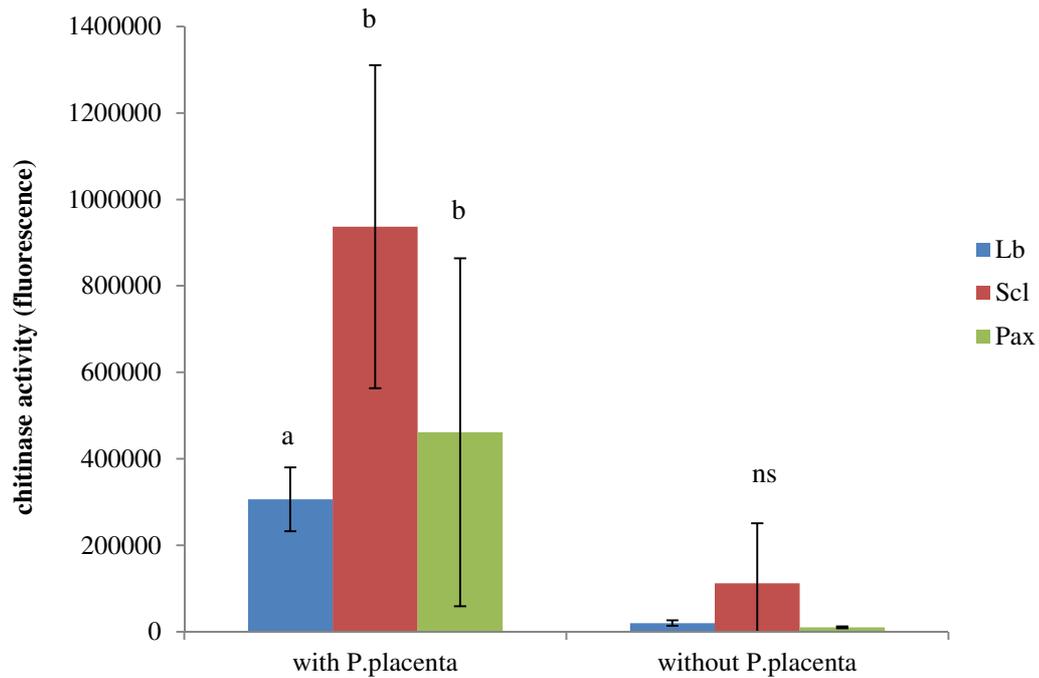


Figure 2 Chitinase activity for each ECM fungus cultivated in presence or absence of saprotrophic fungal necromass (Lb= *Laccaria bicolor*, Scl=*Scleroderma citrinum*, Pax= *Paxillus involutus*). The different letters indicate a significant difference ($pval < 0.05$). Standard deviations were represented by the error bars.

3.2 $^{13}C/^{15}N$ isotopic results by compartments

The ^{13}C and ^{15}N labelling was assessed by calculating $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ for each compartment (table 1). The differences of $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ between natural abundance and labelled conditions were significant for all compartments. As it was technically difficult to separate the *Paxillus involutus* mycelium from the perlite substrate, they were considered as a single compartment. Nevertheless, the perlite is an inert material, which does not contain significant quantity of carbon or nitrogen (respectively 0.03% and 0.006% of the perlite composition). We could affirm that the carbon and nitrogen measured in this compartment belonged only to the fungal material and / or root exudates.

	<i>Postia placenta</i> control		<i>Postia placenta</i> labelled	
	$\delta^{13}C$ (‰)	$\delta^{15}N$ (‰)	$\delta^{13}C$ (‰)	$\delta^{15}N$ (‰)
Patch (beginning)	-17.10 (0.3)	5.83 (1.9)	379.92 (80.5)	4357.49 (1037.3)
Perlite + EcM mycelium	-12.31 (0.6)	2.29 (0.3)	2.12 (7.1)	79.37 (39.7)
Mycorrhized roots	-22.71 (1.4)	4.60 (0.8)	-9.52 (4.3)	341.67 (47.7)
Stem	-24.44 (1.8)	2.06 (0.4)	-19.85 (1.6)	310.68 (60.4)
Needles	-24.26 (1.3)	3.63 (0.9)	-17.20 (3.6)	311.39 (122.1)

Table 1 Average values of $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ for each compartment for enriched and natural abundance conditions. The values into bracket correspond to the standard deviation.

The ^{15}N enrichment was clearly significant for the tree's compartments and for the ectomycorrhizal mycelium, which colonized the perlite substrate. The mycorrhized roots and the ectomycorrhizal mycelium were strongly enriched in ^{13}C (Table 1). If the $\delta^{15}\text{N}$ was significantly higher in all compartments, from the mycelium in the perlite to the needles, the $\delta^{13}\text{C}$ decreased progressively from the ECM fungal mycelium to the needles.

Biomass allocation for the trees

The nutrient stocks have been related to the total biomass of each compartment. The needles represented around 30% of the total biomass, the roots counted between 60% and 65% of the total biomass. The stems represented the weakest part of tree biomass, around 4 and 7%. Analyses of variance exhibited that the aboveground biomass was similar for control plants and labelled ones. The root biomass was significantly higher for the trees growing with labelled patches (pval=0.02), which lead to a slightly higher biomass for the trees of the labelled condition (pval = 0.03).

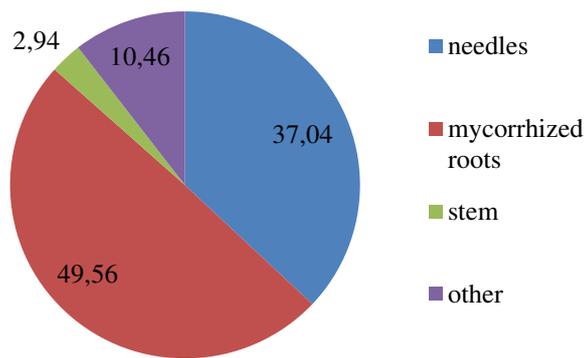
In the supplemental conditions, where two Magenta boxes were connected, the ^{15}N and ^{13}C concentrations measured and the $\delta\text{‰}$ in the needles were similar to the values detected in control plants with $\delta^{13}\text{C}=-27.65\text{‰}$ and $\delta^{15}\text{N} = -7.99\text{‰}$. This result confirmed the absence of enrichment by gas exchanges.

Allocation of the enrichment by compartment reported to the initial labelling

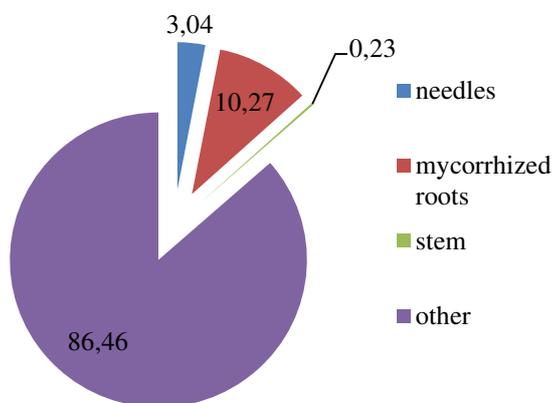
The quantities (mg) of ^{15}N and ^{13}C were calculated by compartment for each tree from the compartment biomass and the value measured in $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ atomic percent. For the two nutrients, the quantities by compartment were compared between the trees that received the labelled and unlabelled patches.

The quantity of ^{15}N and ^{13}C found into the different compartments were related to the initial isotopic labelling of *Postia placenta* patches. Almost 90% of the *Postia placenta* ^{15}N was transferred to the tree, half of the quantity was found into the ectomycorrhized roots and around 40% in the aerial part (Figure 3a). On the contrary, less than 15% of the initial ^{13}C was transferred to the tree and was mostly found into the mycorrhized roots (Figure 3b).

This result means that more than 75% of organic carbon (^{13}C) mobilized by the plant was concentrated in roots mycorrhized by *Paxillus involutus*. However, around 3% of the initial ^{13}C were found in the needles.



a



b

Figure 3 Repartition of the initial ^{15}N (a) and ^{13}C (b) within the different tree compartments from the inoculum patch of lyophilized *Postia placenta*. The compartment “other” corresponds to the non-vegetal material present in the Magenta boxes. It encompasses the perlite + ectomycorrhizal mycelium and the residual inoculum patches of *Postia placenta*.

Discussion

Since the mid-1980s, there has been a considerable amount of research aimed at assessing the ability of ectomycorrhizal fungi to mobilize and metabolize nutrients from the detrital materials of microbial faunal and plant origins (Read & Perez-Moreno, 2003). In particular, numerous studies focused on the ECM fungi ability to mobilize P and N from diverse organic sources (Abuzinadah & Read, 1986; Finlay et al., 1992; Perez-Moreno & Read, 2000). But, even if chitin is the most abundant amino-polysaccharide in nature (Kumar, 2000), little is known about the turn-over of this considerable pool of nitrogen for other organisms, including ECM fungi and their mycorrhizal trees. In our experiment of controlled mycorrhization of seedling, we used as the sole form of organic material the fungal necromass, composed of 10

to about 20% of chitin (Di Mario et al., 2008; Hartl et al., 2012). Chitin can be degraded into simple N-acetyl-glucosamin by extracellular chitinase activity, providing nitrogen and carbon source.

Our result showed enrichment with ^{15}N of the vegetal tissues, highlighting a transfer of nitrogen from the necromass *Postia placenta*, a wood decaying fungus, to the tree through the ectomycorrhizal fungus. This result demonstrated that the symbiotic fungus *Paxillus involutus* is able to mobilize nitrogen from the *Postia placenta* necromass and further, to transfer it to its host. It contests the previous study from Leake & Read (1990) testing the capacity of diverse mycorrhizal species to degrade chitin. Indeed, they presented a weak chitinase activity for *Paxillus involutus* cultivated in presence of chitin as sole source of nitrogen. But the chitin was not from fungal origin but from crustaceous shells. In the present study, this transfer of organic nitrogen from fungal necromass was observed with a concurrently experiment demonstrating a significant increase of N-acetyl-glucosaminidase activity of *Paxillus involutus* in presence of *Postia placenta* necromass in pure culture.

Moreover, the strong accumulation of ^{15}N , especially in the aerial compartments, confirmed an important transfer to the plant and suggested that needles were a more relevant sink than roots. During the manipulations, it was carefully checked that the aboveground parts of tree were not in contact with the labelled patches to be sure that the measured enrichment was not caused by a contamination.

On the contrary, there was a weaker enrichment in ^{13}C in the host tree, even though the labeling was slightly higher in the mycorrhized roots than in the needles. It showed that ^{13}C was less transferred to the plant than ^{15}N . The significant proportion of ^{13}C measured in the perlite / *Paxillus involutus* mycelium mixture suggested that the carbon necromass, which was not found in the trees, could be remained in the initial patch of dead *Postia placenta* (not consumed) and / or incorporated by the ectomycorrhizal fungus and accumulated in its mycelium. This second hypothesis can be supported since the $\delta^{13}\text{C}$ measured in the perlite + ectomycorrhizal mycelium was clearly higher in the samples with labelled patches compared to the “natural abundance” condition (table 1). That could illustrate the fact that *Paxillus involutus* is able to assimilate carbon from dead fungi and integrate it directly in its own metabolism without transferring it to the tree. Interestingly, a slight part the ^{13}C was also found in the tree, what could suppose a weak transfer of C toward the host-plant in conditions of limited nutrient supply, or through the transport of fungal organic molecules, which cannot be synthesized *de novo*.

Previous studies have showed that *Paxillus involutus* possessed the enzymes required to degrade complex organic compounds from vegetal material but would not be able to assimilate released carbon (Rineau et al., 2012). Nevertheless, the carbon source corresponded to sugars and complex cellulolytic compounds from forest litter (C polymers, aromatic molecules, phenols, etc.). The high laccase and oxidase activities in presence of forest litter extracts revealed a saprotrophic capacity similar to brown-rot fungi which are able to degrade polysaccharides and cellulosic compounds of wood.

Our experimental highlighted a more relevant mobilization of nitrogen and an important transfer toward the trees in conditions of limited nutrient supply. It has recently proved that the C availability directly drives the nitrogen mobilization of *Paxillus involutus* as well as its activities of litter degradation (Rineau et al., 2013). It has been shown that carbon starvation induced transcripts of genes coding for laccases, chitinase and peptidases and the transcripts for N-transporters. It was observed releases of nitrogen compounds in the medium, like ammonium or chitin, suggesting a recycling mechanism of components in case of carbon starvation (Ellstrom et al., 2015). Such release of nitrogen compounds in the medium could be directly mobilized by trees. This process of chitin degradation during C starvation occurred also in ascomycete fungi as *Aspergillus sp.* (Nitsche et al., 2012). In future studies, it would be necessary to quantify the expression of ECM transcripts in presence or absence of fungal necromass to identify the genes involved in the degradation of this organic substrate.

This potential saprotrophic strategy of ECM fungi in conditions of limited nutrient supply is an essential part in the soil forest food web. Litter and dead wood provide a direct source of nutrients saprotrophic fungi, which, themselves may be degraded by ECM fungi, contributing to loop the loop by organic nitrogen transfer to the host plant. This eventual trophic relationship between these symbiotic and lignolytic fungi could explain the abundance of ectomycorrhizal fungi in the strongly decayed wood (Rajala et al., 2012) and the high ECM fungal chitinase activity measured in dead wood (Buée et al., 2007). Finally, these results put forward the problematic of dead wood management in context of intense biomass exportations on the functional diversity of fungi in the soil forest food web.

References

Abuzinadah, R. A., Read, D. J., 1986. The role of proteins in the nitrogen nutrition of ectomycorrhizal plants. I. Utilization of peptides and proteins by ectomycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 481-493.

- Buée, M., Vairelles, D., Garbaye, J., 2005. Year-round monitoring of diversity and potential metabolic activity of the ectomycorrhizal community in a beech (*Fagus sylvatica*) forest subjected to two thinning regimes. *Mycorrhiza* 15, 235–245.
- Buée, M., Courty, P.E., Mignot, D., Garbaye, J., 2007. Soil niche effect on species diversity and catabolic activities in an ectomycorrhizal fungal community. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 1947–1955.
- Courty, P.-E., Bréda, N., Garbaye, J., 2007. Relation between oak tree phenology and the secretion of organic matter degrading enzymes by *Lactarius quietus* ectomycorrhizas before and during bud break. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 1655–1663.
- Di Mario, F., Rapana, P., Tomati, U., & Galli, E., 2008. Chitin and chitosan from Basidiomycetes. *International journal of biological macromolecules*, 43(1), 8-12.
- Durall, D. M., Todd, A. W., & Trappe, J. M., 1994. Decomposition of ¹⁴C-labelled substrates by ectomycorrhizal fungi in association with Douglas fir. *New Phytologist*, 127(4), 725-729.
- Ellstrom, M., Shah, F., Johansson, T., Ahren, D., Persson, P., Tunlid, A., 2015. The carbon starvation response of the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*. *FEMS Microbiology Ecology* 91, fiv027–fiv027.
- Finlay, R. D., Frostegard, A., Sonnerfeldt, A. M., 1992. Utilization of organic and inorganic nitrogen sources by ectomycorrhizal fungi in pure culture and in symbiosis with *Pinus contorta* Dougl. ex Loud. *New Phytologist*, 105-115.
- Gilbertson, R.L., 1980. Wood-Rotting Fungi of North America. *Mycologia* 72, 1–49.
- Hartl, L., Zach, S., Seidl-Seiboth, V., 2012. Fungal chitinases: diversity, mechanistic properties and biotechnological potential. *Applied Microbiology and Biotechnology* 93, 533–543.
- Heller, G., Adomas, A., Li, G., Osborne, J., van Zyl, L., Sederoff, R., Finlay, R.D., Stenlid, J., Asiegbu, F.O., 2008. Transcriptional analysis of *Pinus sylvestris* roots challenged with the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor*. *BMC Plant Biology* 8, 19. doi:10.1186/1471-2229-8-19
- Kumar, M. N. R., 2000. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and unctional polymers*, 46(1), 1-27.
- Leake, J.R., Read, D.J., 1990. Chitin as a nitrogen source for mycorrhizal fungi. *Mycological Research* 94 (7):993-995.
- Lindahl, B. D., Taylor, A. F., 2004. Occurrence of N-acetylhexosaminidase-encoding genes in ectomycorrhizal basidiomycetes. *New Phytologist*, 164(1), 193-199
- Lindahl, B.D., Finlay, R.D., 2006. Activities of chitinolytic enzymes during primary and secondary colonization of wood by basidiomycetous fungi. *New Phytologist* 169, 389–397.
- Lindahl, B.D., Ihrmark, K., Boberg, J., Trumbore, S.E., Högberg, P., Stenlid, J., Finlay, R.D., 2007. Spatial separation of litter decomposition and mycorrhizal nitrogen uptake in a boreal forest. *New Phytologist* 173, 611–620.
- Lindahl, B.D., Tunlid, A., 2015. Ectomycorrhizal fungi - potential organic matter decomposers, yet not saprotrophs. *New Phytologist* 205, 1443–1447.

- Nitsche, B.M., Jørgensen, T.R., Akeroyd, M., Meyer, V., Ram, A.F., 2012. The carbon starvation response of *Aspergillus niger* during submerged cultivation: insights from the transcriptome and secretome. *BMC genomics* 13, 380.
- Perez-Moreno, J., Read, D. J., 2000. Mobilization and transfer of nutrients from litter to tree seedlings via the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants. *New Phytologist*, 145(2), 301-309.
- Pritsch, K., Raidl, S., Marksteiner, E., Blaschke, H., Agerer, R., Schloter, M., Hartmann, A., 2004. A rapid and highly sensitive method for measuring enzyme activities in single mycorrhizal tips using 4-methylumbelliferone-labelled fluorogenic substrates in a microplate system. *Journal of Microbiological Methods* 58, 233–241. doi:10.1016/j.mimet.2004.04.001
- Rajala, T., Peltoniemi, M., Pennanen, T., Mäkipää, R., 2012. Fungal community dynamics in relation to substrate quality of decaying Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) logs in boreal forests. *FEMS Microbiology Ecology* 81, 494–505.
- Read, D. J., Perez-Moreno, J., 2003. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems—a journey towards relevance? *New Phytologist*, 157(3), 475-492.
- Rineau, F., Roth, D., Shah, F., Smits, M., Johansson, T., Canbäck, B., Olsen, P.B., Persson, P., Grell, M.N., Lindquist, E., Grigoriev, I.V., Lange, L., Tunlid, A., 2012. The ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* converts organic matter in plant litter using a trimmed brown-rot mechanism involving Fenton chemistry: Organic matter degradation by ectomycorrhizal fungi. *Environmental Microbiology* 14, 1477–1487.
- Rineau, F., Shah, F., Smits, M.M., Persson, P., Johansson, T., Carleer, R., Troein, C., Tunlid, A., 2013. Carbon availability triggers the decomposition of plant litter and assimilation of nitrogen by an ectomycorrhizal fungus. *The ISME journal* 7, 2010–2022.
- Smith, S.E., Read, D.J., 2010. *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press.
- Talbot, J.M., Allison, S.D., Treseder, K.K., 2008. Decomposers in disguise: mycorrhizal fungi as regulators of soil C dynamics in ecosystems under global change. *Functional Ecology* 22,
- Tedersoo, L., Kõljalg, U., Hallenberg, N., & Larsson, K. H., 2003. Fine scale distribution of ectomycorrhizal fungi and roots across substrate layers including coarse woody debris in a mixed forest. *New Phytologist*, 159(1), 153-165.
- Vaario, L. M., Guerin-Laguette, A., Matsushita, N., Suzuki, K., Lapeyrie, F. 2002. Saprobic potential of *Tricholoma matsutake*: growth over pine bark treated with surfactants. *Mycorrhiza*, 12(1), 1-5.
- Vaario, L.-M., Heinonsalo, J., Spetz, P., Pennanen, T., Heinonen, J., Tervahauta, A., Fritze, H., 2012. The ectomycorrhizal fungus *Tricholoma matsutake* is a facultative saprotroph in vitro. *Mycorrhiza* 22, 409–418.
- Walker, J.K.M., Ward, V., Paterson, C., Jones, M.D., 2012. Coarse woody debris retention in subalpine clearcuts affects ectomycorrhizal root tip community structure within fifteen years of harvest. *Applied Soil Ecology* 60, 5–15.
- Watkinson, S. C., Bebbler, D., Darrah, P., Fricker, M., Tlalka, M., Boddy, L., 2006. The role of wood decay fungi in the carbon and nitrogen dynamics of the forest floor. *Fungi in biogeochemical cycles*. Cambridge University Press, Cambridge, 151-181.

CHAPITRE VI

DISCUSSION & PERSPECTIVES

1. Récapitulatifs des principaux résultats

- **ARTICLE 1** : L'utilisation de la **spectrométrie proches et moyens infrarouges**, croisée avec une caractérisation **dendrométrique** des peuplements, a permis de mettre en place un ensemble de dispositifs expérimentaux s'affranchissant **des effets initiaux de la variabilité spatiale** à l'échelle de la parcelle forestière (2 ha). Cette méthode confirme que les données spectrales infrarouges peuvent être considérées comme un **proxy des propriétés physico-chimiques des sols** et offrent une description intégrée et rapide de sols étudiés au temps T0, en amont des traitements appliqués sur les sites expérimentaux du réseau MOS.
- **ARTICLE 2** : La description des communautés fongiques des sols à T0, avant manipulation *in situ*, confirme **l'étroite corrélation entre richesse taxonomique et pH du sol**. Elle met en évidence qu'à une échelle régionale, la diversité fongique totale est principalement structurée par les **conditions édaphiques**. Néanmoins, les réponses des communautés fongiques sont hiérarchisées différemment selon les guildes écologiques. Ainsi, les **cortèges ectomycorhiziens**, bien que sensibles aux paramètres édaphiques, sont aussi **fortement dépendants de l'essence-hôte** : ils apparaissent prioritairement **structurés par la pluviométrie annuelle** en comparaison aux assemblages fongiques non-symbiotiques, **en particulier sous hêtre, essence également sensible à la pluviométrie**.
- **ARTICLE 3** : A très court terme, les manipulations de litière et des rémanents ne semblent causer aucun effet net pour certains des sept sites MOS étudiés, alors que pour d'autres, les premières tendances liées à l'exportation des litières sont observées au niveau fonctionnel et biochimique. Les analyses spectrales NIRS et MIRS révèlent des **effets significatifs du retrait des litières pour les sites chênes, et pas d'effet significatif pour les sites hêtres**. Sur un des sites, on observe une réduction des **activités chitinasés, probablement liées à la biomasse fongique**, permettant ainsi de mettre en avant un potentiel indicateur fonctionnel sensible. Les exportations de litière et de rémanents n'ont eu, à ce stade, **aucune incidence significative sur les processus de minéralisation et de nitrification de l'azote**.
- **ARTICLE 4** : Le traçage du marquage isotopique (^{13}C et ^{15}N) de la nécromasse d'une espèce saprotrophe du bois mort, révèle une **mobilisation du C et N de la part du champignon ectomycorhizien *Paxillus involutus*** cultivé en sa présence. De plus, ce dernier **transfert une grande part du N mobilisé à la plante** qui lui est symbiotiquement associée. Ce résultat suggérerait que la nécromasse des champignons lignolytiques, et en particulier la chitine fongique abondamment présente dans le bois en cours de décomposition, serait une source directe de nutriments pour les arbres, par l'intermédiaire des symbiontes ectomycorhiziens.

		cycle de l'azote			activités enzymatiques				
		"screening" NIRS-MIRS	PNM	PNN	laccase	phosphatase acide	cellobiohydrolase	β-glucosidase	N-acétyl-glucosaminidase
Champenoux	chêne	≠ SN vs R et T *	-	tendance SN < R et T	-	SN < T *	-	-	tendance SN < T
Compiègne CHE	chêne	≠ SN vs R et T *	-	-	nd	nd	nd	nd	nd
Reichshoffen	chêne	≠ SN vs R et T *	tendance SN < R et T	tendance SN < R et T	nd	nd	nd	nd	nd
Darney	hêtre	-	-	-	-	-	-	-	tendance SN < T
Compiègne HET	hêtre	-	-	-	nd	nd	nd	nd	nd
Verrières	hêtre	-	-	-	nd	nd	nd	nd	nd
Ban d'Harol	hêtre	nd	nd	nd	-	-	tendance SN < T	tendance SN < T	SN < T *

Table VI.1 : récapitulatif des effets observés suite aux exportations de biomasse sur l'horizon 0-5 cm pour les sept sites étudiés

PNM = potentiel net de minéralisation ; PNN = potentiel net de nitrification

« - » = aucun effet significatif observé ; * = effet significatif (pvalue < 0.05) ; nd = l'indicateur n'a pas été testé sur ce site

2. Exportations de biomasse : quels effets à moyen terme ?

2.1 Dynamique des matières organiques des sols

Les observations à court terme sur les sites MOS étudiés ne mettent en évidence aucun impact significatif sur les sols d'une récolte des rémanents postérieure à l'éclaircie. Les premiers effets des manipulations de matières organiques sur les sites MOS ne sont visibles que dans le cas des exportations les plus intenses, lorsque les litières forestières ont été entièrement prélevées. Bien que les processus de minéralisation et de nitrification de l'azote n'aient pas été affectés, des différences significatives entre les sols sans litière (SN) et ceux l'ayant conservés (modalités T et R) ont été révélées par spectrométrie infrarouge, dans les gammes de fréquences moyens infrarouges. Ces fréquences d'onde caractérisent particulièrement les matières organiques (Patzold et al. 2008 ; Ludwig et al., 2015). De façon intéressante, ces différences, mises en lumière par les analyses spectrales ne sont rencontrées que sur les sites *chênes* (Table VI.1).

Pour l'ensemble des sites étudiés, ces effets du traitement « sol nu » sur les sols, un an après perturbation, sont donc observés indépendamment :

- de la date de mise en place des traitements sur les différents sites ;
- de l'indice de charge rapportant la quantité d'azote exportée à la concentration en azote initialement présent dans le sol (Saint-André et al., 2008 ; Nambiar et al., 2008).

2.2.1 Cas des sites « chêne »

Si on considère les deux sites chêne dont les indices de charge sont les plus contrastés (Champenoux et Reichshoffen), les analyses spectrales proche infrarouge révèlent des différences significatives au niveau de gammes de nombres d'onde situées dans les moyens infrarouges et propres aux fonctions caractérisant des composés organiques, probablement des sucres simples ou complexes issus de la dégradation de la cellulose (Ludwig et al., 2008 ; Tazber et al. 2011). Néanmoins, ces différences concernent de plus larges gammes sur le site de Champenoux, dont l'indice de charge est le plus faible. L'effet « sol nu » induit des différences sur les mêmes bandes de nombres d'onde pour les trois sites *chêne* (cf. chapitre IV), notamment sur la zone $3500-3000\text{cm}^{-1}$, signature des groupes OH (Ludwig et al., 2008). L'intensité des effets observés (en termes de gammes de nombres d'onde qui diffèrent entre traitement) semble directement reliée au temps d'installation des traitements *in situ*. Le site de

Compiègne, mis en place plus tardivement par rapport aux deux autres, présente le moins de différences entre les modalités avec et sans litière. On peut alors émettre l'hypothèse que ces effets mis en lumière par MIRS sont dus à l'impact de l'exportation des litières sur la dynamique d'incorporation des matières organiques. Ces analyses demeurent néanmoins prospectives et sont à confirmer par les prochaines campagnes d'échantillonnage et par des analyses fines au niveau biochimique, en reliant intensité des réponses spectrales et transformations chimiques des matières organiques végétales.

La manipulation des litières et des rémanents n'a provoqué aucun effet significatif au niveau des potentiels de minéralisation et de nitrification, quel que soit le site. Des tendances semblent pourtant se dégager, notamment pour le site de Reichshoffen : l'exportation des litières diminuerait légèrement les potentiels de minéralisation et de nitrification de l'azote dans l'horizon 0-5 cm par rapport aux deux autres modalités.

2.2.2 Cas des sites « hêtre »

D'une autre part, sur les sites *hêtre*, aucun impact du retrait des litières n'a été détecté pour l'ensemble des analyses effectuées (spectrométrie MIRS, minéralisation de l'azote et tests d'activités enzymatiques), y compris sur le site de Darney. Pourtant, ce site a été installé presque simultanément à ceux de Champenoux et Reichshoffen (janvier 2014) et présente des conditions édaphiques *a priori* peu favorables : faible pH, sol sableux, humus assez épais de type dysmull et ratio C/N assez élevé par rapport aux autres sites MOS (17.6 en moyenne pour la profondeur 0-10 cm). L'indice de charge est aussi le plus conséquent pour ce site.

2.2.3 Réponses contrastées et qualité des litières

L'absence de réponse aux modalités SN sur les sites *hêtre* serait à relier aux différences de qualité et de compositions biochimiques des litières issues de ces deux essences. Les litières de hêtre sont plus récalcitrantes que celles de chêne, dont la teneur en lignine est plus faible et la vitesse de décomposition plus rapide (Sariyildiz & Anderson, 2005). Le prélèvement des litières affecterait le sol (horizon organo-minéral) d'autant plus fort que la litière s'y décompose rapidement. Les travaux de thèse de Jade Sallèles (2014) ont ainsi mis en avant que l'azote organique s'accumulait dans l'horizon organique des sols présentant un humus épais et une faible vitesse de décomposition des litières. Ces horizons, généralement plus acides mais plus riches en biomasse fongique (Ponge, 2013) bénéficieraient d'azote labile disponible, avec temps de résidence plus important (environ 2 à 3 ans) que dans les sols dont

le turn-over des matières organiques est bien plus rapide. En effet, dans les humus de type mull, les litières sont rapidement décomposées (un an) et l'azote est très vite incorporé dans les horizons minéraux du sol. Le prélèvement des litières a ainsi privé les micro-organismes d'azote plus vite que dans les sites à décomposition de litière lente et ceux-ci ont « attaqué » la matière organique présente dans l'horizon 0-5cm.

A très court terme, l'épaisseur de la litière pourrait ainsi tamponner les flux de nutriments (particulièrement de N) par accumulation dans l'horizon organique sur un temps de résidence plus long (Ponge, 2013). En revanche, la récolte des chutes de litière, répétée sur plusieurs années consécutives entraînerait, dans ces sols plus « pauvres », la privation d'une source principale d'azote dans les écosystèmes forestiers (Zeller et al., 2000). Les humus épais jouant un rôle de réservoir de matières organiques mobilisables (Sallèles, 2014), l'appauvrissement drastique de ce compartiment par récolte des litières annuelles pourrait devenir dommageable pour ces écosystèmes à moyen terme.

Un suivi annuel des potentiels de minéralisation de l'azote et de nitrification, associé à un suivi du processus de respiration permettrait de déterminer à partir de quelle intensité d'exportation apparaîtrait :

- une différence notable entre les différents régimes d'exportation de biomasse ;
- un éventuel seuil de non-retour des flux biogéochimiques.

Il serait pertinent de compléter cette approche « flux » par un suivi de la qualité des matières organiques par des approches de fractionnement granulométrique et densimétrique. Cela apporterait un éclairage quant à la hiérarchisation des réponses sur les différentes fractions. L'absence de différence entre traitements au niveau des analyses NIRS/MIRS pour les sites *hêtre*, contrairement aux résultats des sites *chêne*, laisse à penser que les fractions les plus grossières ne seraient pas forcément impactées en premier. Une réponse immédiate traduite au niveau des fractions plus fines expliquerait les contrastes entre les sites *chêne* et *hêtre* observés par spectrométrie infrarouge.

2.2 Distribution verticale de la diversité fongique

Le long d'un profil de sol, les communautés fongiques se distribuent verticalement, en fonction des différents horizons. Si certaines espèces colonisent les différents horizons indistinctement, d'autres sont inféodés à une profondeur, notamment des espèces fongiques

strictement spécialistes des litières (horizon L) (Dickie et al., 2002). Ainsi, dans un podzol sous résineux, les champignons décomposeurs se retrouvent essentiellement au niveau de la litière récente alors que les champignons ectomycorhiziens, mobilisateurs d'azote et de phosphore, sont plutôt abondants dans la litière très fragmentée, l'horizon organique et l'horizon minéral (Lindahl et al., 2007). Cette distribution verticale des champignons telluriques est à mettre en regard avec l'intensité décroissante des activités enzymatiques, d'origine essentiellement fongique en fonction de la profondeur. En effet, les activités cataboliques, surtout de nature hydrolytique, sont les plus intenses au niveau des litières foliaires, et décroissent dans l'horizon organique puis organo-minéral (Snajdr et al., 2008 ; Baldrian et al., 2013). Pour la plupart des activités enzymatiques testées, ces études illustrent une corrélation directe entre les fonctions mesurées et la biomasse fongique, quantifiée par dosage de marqueurs spécifiques comme l'ergostérol et les PLFA (phospholipid fatty acid). Par ailleurs, l'exportation de biomasse induit des modifications importantes de la disponibilité en eau (Wösten et al., 1999 ; Rawls et al., 2003). Les espèces ECM ayant un rôle majeur dans l'alimentation hydrique des arbres, la diversité spécifique, et / ou fonctionnelle, devrait probablement être impactée (Lehto & Zwiazek, 2011). Des dénombrements d'apex ectomycorhiziens dans différents types de sol et sous différentes essences ont aussi mis en évidence une abondance d'ECM croissante avec la profondeur, le long d'un gradient vertical « horizon organique-minéral » de 20 cm (Scattolin et al., 2008).

L'exportation des litières, réitérée chaque année, impacterait prioritairement les espèces inféodées à ce compartiment, de nature principalement saprotrophes et impliquerait une modification de la structuration verticale des communautés. L'amincissement et l'appauvrissement de l'horizon organique pourraient entraîner diverses réponses des cortèges fongiques qui se traduiraient par :

- une diminution de la biomasse fongique, dues à la disparition des saprotrophes de litière ;
- ou/et une diminution de la richesse spécifique, par perte des espèces de litière et de surface ;
- une modification de la diversité fonctionnelle des communautés d'ECM en lien avec la disponibilité en eau ;
- ou une modification de la composition spécifique des communautés par déplacement des espèces le long du gradient vertical.

Dans ce dernier cas, il serait envisageable d'observer un remplacement des certaines espèces négativement impactées par les traitements, par d'autres espèces aux capacités fonctionnelles similaires, ou une « remontée vers la surface » des groupes taxonomiques colonisant les horizons plus profonds et plus pauvres en matières organiques fraîches, comme les champignons ectomycorhiziens (Lindahl et al., 2007). La richesse spécifique et la biomasse fongique ne seraient alors pas affectées mais le fonctionnement de l'écosystème pourrait se trouver modifié si la « nouvelle » communauté mise en place n'assurent pas les mêmes fonctions que les assemblages d'origine (cf. I. 3.3.1).

L'expérimentation en conditions contrôlées décrite par le chapitre V illustre l'utilisation par le champignon ectomycorhizien *Paxillus involutus*, de la nécromasse fongique, issue du champignon lignolytique *Postia placenta*, comme source d'azote et même de carbone. L'arbre-hôte bénéficie également de l'azote d'origine mycélienne par l'intermédiaire de ce champignon symbiotique. Dans l'hypothèse que ce mécanisme est applicable *in vivo* et que ces potentialités existent chez d'autres espèces ectomycorhiziennes, la diminution de la quantité de biomasse de champignons saprotrophes, relative à l'exportation des litières et des résidus ligneux, occasionnerait la perte d'une source d'azote, et probablement d'autres éléments (C, P, S...), potentiellement disponible pour les arbres en symbiose avec des espèces ectomycorhiziennes.

2.3 Modification, résilience ou redondance fonctionnelle des communautés

Sur les sites du réseau MOS étudiés dans le cadre de cette thèse, les communautés fongiques sont en cours d'analyse par approche métagénomique (séquençage haut-débit MiSeq) afin d'identifier d'éventuels changements de richesse ou de composition spécifique après manipulations des rémanents et des litières. Les extractions d'ADN ont été effectuées et les gènes-cibles (barcodes) amplifiés par PCR. Les données sont en cours de traitement, mais à l'heure d'édition du manuscrit, les résultats ne sont pas encore disponibles. On peut cependant supposer diverses réponses, à très court terme, de ces communautés fongiques (figure VI.1).

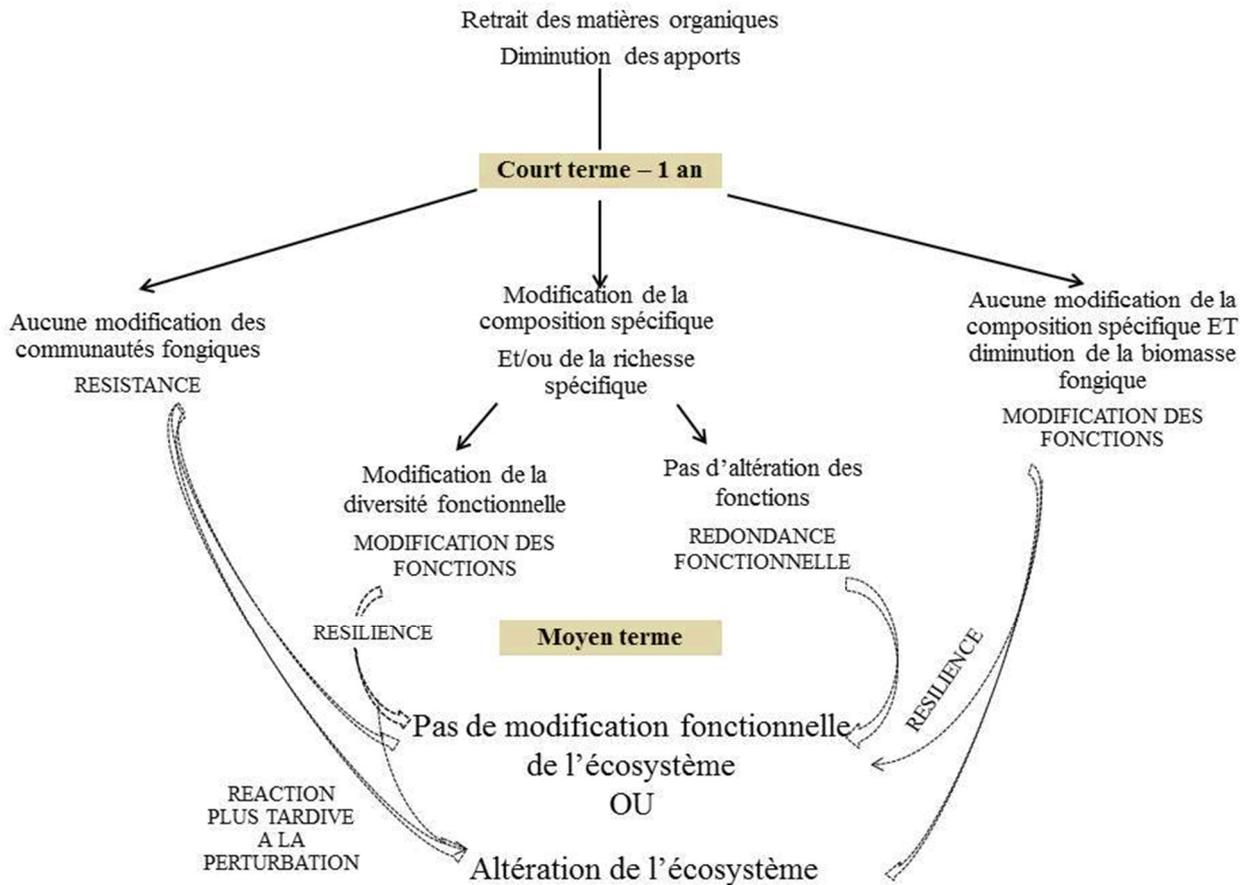


Figure VI.1 : Réponses potentielles des communautés fongiques à court terme (traits pleins) et à moyens termes (traits pointillés) suite aux exportations de biomasse forestières

Les conditions biogéographiques et l'état initial des assemblages fongiques jouent un rôle important dans leurs réponses aux perturbations de l'environnement. Sur des peuplements résineux tempérés à boréaux, des exportations de biomasse liées à la récolte par arbres entiers n'ont provoqué aucune modification des cortèges, même saprotrophes, 25 ans après récolte en Suède (Allmer et al. 2009) alors que sur les sites américains LTSP ayant subis les mêmes pratiques, les communautés fongiques, demeurent fortement altérées plus de treize ans après intervention (Hartmann et al., 2009 ; Hartmann et al., 2012). Ces deux études s'intéressaient à des essences différentes (*Pinus sylvestris* et *Picea abies* en Suède, *Pinus contorta* en Amérique du Nord), impliquant des assemblages fongiques différents. Les analyses moléculaires de la diversité ne faisaient pas non plus appel aux mêmes approches méthodologiques (approche par pyroséquençage sur les sites LTSP contre analyse des T-RLFP sur les sites suédois).

Néanmoins, même si les perturbations du milieu provoquent une réaction immédiate de la diversité fongique, le fonctionnement de l'écosystème pourrait ne pas subir de modification majeure, d'après les principes établis entre diversité et redondance fonctionnelle en écologie des communautés (Diaz & Cabido, 2001). La plasticité écologique des communautés microbiennes et leur considérable diversité trahiraient d'ailleurs une forte redondance de fonctions entre les différents taxons (Allison & Martiny, 2008). Dans le cas d'une modification immédiate (une diminution de la richesse spécifique et/ou de la biomasse totale fongique), la résilience de la communauté est possible, par retour à la composition spécifique initiale (Allison & Martiny, 2008). Les assemblages microbiens, et en particulier bactériens, auraient la capacité à se rétablir après une perturbation du milieu, en partie grâce à au renouvellement rapide de leurs populations et à leur propension à s'adapter (Allison & Martiny, 2008 ; Barnard et al., 2013).

Un retour au fonctionnement originel de l'écosystème à moyen terme, malgré la détection d'un éventuel effet immédiat, n'est pas à écarter et reposerait alors sur un remplacement des cortèges impactés aux fonctions similaires. Des travaux effectués en écologie des communautés végétales établissent des liens étroits entre la stabilité et la résilience des communautés face à une perturbation (ici, la pression de pâturage), et la redondance fonctionnelle (Joner et al., 2011 ; Pilar et al. 2013). En analysant les effets de la perturbation des ressources trophiques (élimination de la biomasse fongique et bactérienne ou fertilisation) sur des communautés de nématodes, Ruess et al. (2001) ont observé que, après un an, la richesse spécifique était diminuée sans modification des propriétés fonctionnelles de l'écosystème étudié (flux de N et des MO, ect.). En effet, les abondances relatives entre les différentes espèces ont évolué, telles que les espèces généralistes et opportunistes (les stratégies R) sont plus présentes et « remplacent » des espèces plus rares et plus lentes à se développer, ou spécifiques de certaines niches écologiques, les stratégies K (MacArthur & Wilson, 1967). Une réponse semblable chez les champignons se traduirait par une augmentation en abondance relative des espèces de stratégie pionnière et généraliste dans les zones où la biomasse forestière aura été exportée, accompagnée par une diminution des espèces plus rares, présentes occasionnellement.

Ces hypothèses renforcent la nécessité de suivre les exportations sur plusieurs années, avec un pas de temps assez régulier pour détecter d'éventuels retours ou ruptures d'équilibre. Les approches métagénomiques constituent un outil puissant pour décrire les communautés fongiques des sols forestiers et pour évaluer leur richesse taxonomique. A court et moyen

terme, ces analyses fines permettront de mettre en évidence d'éventuelles modifications des cortèges fongiques, et d'identifier de potentielles espèces « clés de voûte » du fonctionnement des sols forestiers.

Ces méthodes biomoléculaires peuvent être complétées par des inventaires de carpophores, un moyen d'approcher les effets des prélèvements de biomasse à l'échelle des mécanismes de reproduction des champignons épigés et les liens entre disponibilité en matières organiques et fructifications. De plus, les corps fructifères des champignons du sol peuvent être aisément observables à certaines saisons par les gestionnaires et personnels de terrain dans le cadre d'un suivi régulier.

Afin de comprendre au mieux les processus en jeu, l'analyse de la diversité phylogénétique et fonctionnelle devrait s'étendre aux communautés microbiennes bactériennes ainsi qu'à la macro- et méso-faune. Comme pour les champignons du sol, des approches par identification morphologique et par *barcoding* sont envisagées.

3. Comment évaluer les impacts des prélèvements de biomasse sur l'écosystème forestier

3.1 Un indicateur prenant en compte la dimension biologique et biochimique

Sur les sites MOS étudiés moins d'un an après la récolte des rémanents, le recul n'est pas suffisant pour détecter un effet de cette exportation sur les sols. Les seules différences nettes ont été observées pour les placeaux *chênes* privés de litière par spectrométrie infrarouge (MIRS) et au niveau des expressions chitinases sur un site, Ban d'Harol (les deux autres sites offrant des tendances similaires, mais non significatives).

Ces éventuels impacts apparaissent indépendants de la quantité de biomasse récoltée (indice de charge, cf. paragraphe précédent), bien que l'indice utilisé (Saint-André et al., 2008) module l'exportation des résidus ligneux par la concentration d'azote totale dans l'horizon organo-minéral. Ce résultat permet de supposer une rémanence des fonctions de l'écosystème sur le court terme, en dépit de l'intense exportation de matière organique. Néanmoins, l'indice de charge a été calculé à partir d'estimations de minéralomasse issues de la base de données Emerge et nécessiterait d'être précisé en intégrant les teneurs en azote réellement mesurées pour chaque site MOS. De plus, cet indicateur a été établi pour expliquer l'impact des exportations de biomasse sur la croissance (surface terrière) en fin de rotation pour des

peuplements d'Eucalyptus en zone tropicale. Il n'a jamais été éprouvé pour prédire des paramètres relatifs aux composantes chimiques ou biologiques.

De manière intéressante, on observe que le retrait des litières et des rémanents implique une diminution significative des activités N-acétyl-glucosaminidases sur le site *hêtre* de Ban d'Harol. La répétition des dosages enzymatiques en juin et octobre 2015 confirme cette observation. Au regard de la littérature, les activités chitinolytiques, liées à la dégradation de la chitine et à l'acquisition de C et N, sont positivement corrélées avec la biomasse fongique totale, estimées à partir de marqueurs de type ergostérol ou PLFA (Miller et al., 1998 ; Snajdr et al., 2008 ; Baldrian et al., 2010). De façon générale, les activités chitinases des sols forestiers dépendent fortement de la biomasse microbienne totale (Andersson et al., 2004).

La mesure de l'activité chitinase constituerait alors un indicateur direct et sensible à court terme de la biomasse fongique et de son fonctionnement, et traduirait, pour le site de Ban d'Harol, une diminution, en abondance, de la composante microbienne fongique consécutive aux manipulations. Weintraub et al. (2013) avaient établi une corrélation positive entre l'intensité des activités N-acétyl-glucosaminidases et la quantité de litières en forêt tropicale, ce qui permet de supposer une réduction de ces activités si la quantité de litière diminuait.

Les deux autres sites ne répondent pas à cet indicateur, même si le site de Darney présente des conditions édaphiques, climatiques et stationnelles très proches de celles de Ban d'Harol. La réponse immédiate de ce dernier site n'est pas non plus reliée à sa richesse taxonomique, comparable à celle de Darney.

La comparaison des indices de charge pour ces trois sites n'explique pas non plus la réactivité à très court terme des potentiels chitinolytiques sur ce site. Il est néanmoins à remarquer que le site de Ban d'Harol a subi les exportations de bois au sol les plus importantes, compte tenu de la forte densité de tiges (20.2 tonnes sèches par hectare contre 10 et 14 pour les deux autres sites). Une partie de ce bois avait atteint un stade assez avancé de décomposition (observations de terrain). Le bois mort au sol héberge une abondante quantité de mycélium, de nécromasse fongique et de ce fait, une activité chitinase importante (cf. chapitre V). Une des hypothèses, à considérer avec précaution, serait que la suppression de ce stock de bois mort, plus conséquent à Ban d'Harol, ait impacté la biomasse fongique, et donc les activités chitinases sur les placeaux *sol nu*, autant liées à l'autophagie des champignons (Ellström et al., 2015) qu'aux interactions trophiques potentielles entre champignons de guildes écologiques différentes (Buée et al., 2007 ; Rajala et al., 2012)

Il apparaît nécessaire de quantifier la biomasse microbienne, notamment fongique sur les sites MOS afin de les mettre en regard avec l'éventuel indicateur apporté par les mesures d'activités chitinasés et par l'étude des flux biogéochimiques (N). Cette quantification pourra faire appel aux méthodes de PCR quantitative, basées sur des approches de biologie moléculaire, ainsi qu'à des dosages de marqueurs lipidiques spécifiques des champignons (Olsson et al., 2003).

Il serait alors possible de moduler les impacts de l'exportation des litières et des rémanents d'exploitation en fonction :

- de la composition chimique des résidus récoltés
- des concentrations initiales de nutriments dans l'horizon organo-minéral
- de la biomasse microbienne fonctionnelle et « disponible » dans l'horizon organo-minéral, intégrant alors la dimension biologique au concept d'indice de charge.

3.2. Evaluation des exportations au cours des prochaines rotations

Les périodes entre deux éclaircies oscillent entre six et huit ans selon les peuplements pour les sites chênes et hêtres du réseau MOS. Sur la base des intensités d'éclaircie prévues pour chacun site MOS, il serait possible d'évaluer la quantité de biomasse et de minéralomasse exportée lors des prochaines rotations. Le modèle de croissance Fagacées (Dhôte, 1995, Le Moguedec & Dhôte, 2012) implémenté par les modèles de biomasse (Hêtre : Genet et al. 2011, Chêne : Hounzandji et al. 2015) et des modèles de concentration en éléments minéraux établis pour le hêtre (Wernsdörfer et al., 2014) et bientôt pour le chêne (Hounzandji et al. 2016) permettrait d'anticiper les effets de la récolte des rémanents sur plusieurs rotations.

Dans une perspective à moyen terme (une à deux rotations), l'indice de charge décrit précédemment se corrèle parfaitement avec l'intensité de réponse du peuplement à l'exportation des résidus d'exploitation (réponse observée au niveau de la croissance en surface terrière, Saint-André et al. 2008). Cela peut supposer une perte de croissance radiale pour les sites MOS présentant un fort indice de charge, notamment ceux de Darney, de Ban d'Harol et de Reichshoffen. Pour les autres sites, malgré l'observation d'effets immédiats, les exports de N par prélèvement de biomasse seraient compensés à moyen terme par une richesse édaphique initiale et une activité biologique plus importantes. Des inventaires dendrométriques (hauteur et circonférence) surveilleront ces évolutions sur le moyen terme dans le cas d'éventuelles répercussions sur la productivité forestière. Dans cette configuration,

les impacts sur la croissance des peuplements seraient à corrélérer avec les indicateurs de diversité et de richesse taxonomique.

3.3 Effets indirects de la manipulation des litières et des rémanents

Les litières et les menus-bois remplissent un rôle de régulateur des conditions microclimatiques, assurant le maintien de la température et de l'humidité du sol (Sayers, 2006). L'installation de sondes mesurant l'humidité massique dans la profondeur 0-10 cm sur le site de Champenoux a permis d'identifier un net effet du couvert de litière sur le maintien de l'humidité : le sol nu demeure significativement plus sec que le sol témoin, notamment lors d'une période prolongée de sécheresse (IV. Figure S3). Or, le taux d'humidité et la température du sol constituent des facteurs contrôlant l'activité catabolique des communautés microbiennes des sols forestiers, et principalement des champignons (Alster et al., 2013 ; Baldrian et al., 2013). Ces modifications des conditions microclimatiques à échelle locale peuvent impacter l'efficacité fonctionnelle des cortèges fongiques.

Enfin, sur un des placeaux SN du site de Darney, il a été observé l'installation d'une strate herbacée (*Deschampsia flexuosa*, *Luzula* sp.), absente avant le retrait des rémanents et des litières. Des études antérieures, menées en forêts tempérées, avaient rapporté que le retrait des litières et des résidus d'éclaircie favorisaient l'installation de plantes vasculaires (Scherer et al., 2000). L'arrivée de cette végétation au sol peut participer alors à la formation d'une litière végétale et donc à l'apport de composés organiques et la nature des exsudats racinaires. Elle pourrait aussi induire une modification des cortèges fongiques, et notamment mycorhiziens puisque 80% des plantes herbacées vivent en symbiose avec des champignons mycorhiziens à arbuscules (Mosse, 1973).

4. La spectrométrie NIR/MIR, un outil pertinent dans le cadre d'un réseau de suivi sur le long terme

L'article n°1 a démontré que la spectrométrie proche et moyen infrarouge fournissait un outil efficace et robuste pour caractériser la variabilité spatiale du sol à l'échelle d'un site expérimental. Elle permet d'approcher les propriétés physico-chimiques dans leur globalité, afin de prendre en considération cette hétérogénéité pour la disposition de modalités testées et de s'en affranchir pour l'observation et l'interprétation des impacts occasionnés par l'expérimentation.

De manière plus habituelle, la spectrométrie NIR/MIR a servi à l'établissement de modèles prédictifs (utilisation de régressions PLS et validations croisées) pour les concentrations en carbone et en azote dans les différents horizons étudiés (cf. II.4). La calibration des modèles étant basée sur les échantillons des sites MOS, ces modèles sont particulièrement adaptés pour le suivi de ces sites dans le cadre d'un monitoring sur le long terme. Ainsi, une application possible de cet outil serait d'élaborer des modèles similaires pour prédire des propriétés liées au fonctionnement biologique des sols telles que la minéralisation de l'azote ou des indices de biomasse et/ou de richesse fongique. La prédiction des processus de minéralisation de l'azote par spectrométrie NIRS/MIRS a déjà fait l'objet de mises en application, notamment en agronomie (Russell et al., 2002) mais font preuve d'une efficacité moyenne (Terhoeven-Urselmans et al., 2008 ; Cécillon et al., 2009). Ces approches spectrométriques sont en revanche très pertinentes pour évaluer les paramètres biologiques des sols comme les biomasses microbiennes, des indices de richesse ou des taux de respiration (Terhoeven-Urselmans et al., 2008 ; Cécillon et al., 2009 ; Soriano-Disla et al. 2014 ; Ludwig et al. 2015). Une application de la spectrométrie proche infrarouge à l'étude des communautés de nématodes propose des résultats prometteurs pour la prédiction des taxons les plus abondants mais peu concluants pour les espèces plus rares (Barthès et al., 2011).

L'élaboration de modèles prédictifs des paramètres biologiques et biogéochimiques à partir de données NIRS/MIRS nécessite un travail de mise au point et de calibration conséquents. La phase de calibration dans le cadre d'un réseau aux sites divers tels que les sites MOS réclamera un grand nombre d'échantillons. Mais dans la perspective d'un suivi régulier et sur le long terme, cet investissement s'avérerait rentable au regard du coût financier et temporel des analyses physico-chimiques en laboratoire.

La détection de différences significatives entre les sols nus et les sols des modalités T et R (cf. article n°3), particulièrement nettes sur les analyses MIR de la profondeur 0-5 cm semble illustrer la manifestation d'un changement dans le processus de décomposition de la litière dû à l'absence de matière organique. Cela serait corroboré par la superposition des nombres d'onde répondant significativement et celles caractéristiques des sucres présents dans les litières. Cette interprétation est à considérer à l'aune de la grande sensibilité des régions MIR aux dynamiques de dégradation des matières organiques des sols et des litières (Ludwig et al. 2008).

5. Extrapolation aux peuplements résineux

Le réseau MOS a vocation à étudier les prélèvements de litières et de rémanents sur trois essences représentatives de la forêt française, dont le sapin de Douglas (*Pseudotsuga menziesii* M.). Pour des raisons logistiques, les sites en peuplements résineux n'ont pas pu être considérés dans le cadre de ce travail de thèse, mais nous proposons ici quelques pistes de réflexions quant aux comparaisons entre feuillus et résineux.

De façon générale, chez les résineux, les feuilles sont plus riches en azote, phosphore, potassium et calcium que les chez les essences feuillues pour lesquelles la minéralomasse est d'avantage accumulée dans les branches et dans le bois de fût non écorcé (Ranger & Bonneau, 1986). Dans les peuplements de Douglas âgés de 25 à 30 ans, le houppier représente 20% de la biomasse aérienne totale (Ponette et al., 2001) et jusqu'à 70% de la minéralomasse. Les exploitations intenses de biomasse testées par le dispositif MOS auront lieu dans ce stade de développement pour les peuplements de Douglas. La récolte des litières et des branches suite au passage en éclaircie impliquerait alors une exportation de minéralomasse plus marquée dans les peuplements de Douglas que dans les parcelles de feuillus (Achat et al., 2014). La thèse d'Andrianarisoa réalisée en 2009 sur plusieurs essences sur le dispositif expérimental de Breuil aboutissait à la conclusion que le Douglas favorisait les potentiels de minéralisation de l'azote et de nitrification, et présentait une diversité et une activité fongique plus faibles que les peuplements feuillus (Buée et al., 2011).

Le stock en N dans le sol était néanmoins plus faible sous Douglas que sous hêtre (perte par lixiviation des nitrates) et la décomposition des litières de Douglas était plus rapide. Dans cette situation, l'exportation de la litière de Douglas, plus riche en N que les litières décidues, induirait un indice de charge plus important que pour les sites feuillus. La diversité fongique (richesse spécifique) est aussi plus limitée sous les peuplements de Douglas en comparaison avec les peuplements de chêne et de hêtre (Buée et al., 2011). Les activités enzymatiques des cortèges de champignons observées sur les peuplements de Douglas de Breuil (Andrianarisoa, 2009) suggèrent une biomasse fongique restreinte. On peut supposer qu'un retrait de litière, pour un tel peuplement, provoquerait un effet immédiat sur les activités enzymatiques, du fait de la privation du substrat riche en nutriments.

6. Conclusion

Le réseau MOS a été établi dans le but d'identifier des indicateurs géochimiques et biologiques pertinents pour expliquer le fonctionnement complexe des écosystèmes forestiers. Au cours de cette thèse, seuls les effets à très court terme des exportations de matière organique ont pu être appréhendés. Cette première campagne de prélèvements a permis de dégager des éventuels indicateurs fonctionnels à suivre dans la perspective du réseau, et à associer à des indicateurs supplémentaires, caractérisant les flux biogéochimiques et la diversité fonctionnelle et taxonomique. A plus long terme, ce réseau aura vocation de support à l'élaboration d'un ou plusieurs indices intégrateurs de ces différentes composantes, et contribuerait ainsi à proposer des pistes de gestion à destination des sylviculteurs et de la filière forêt-bois.

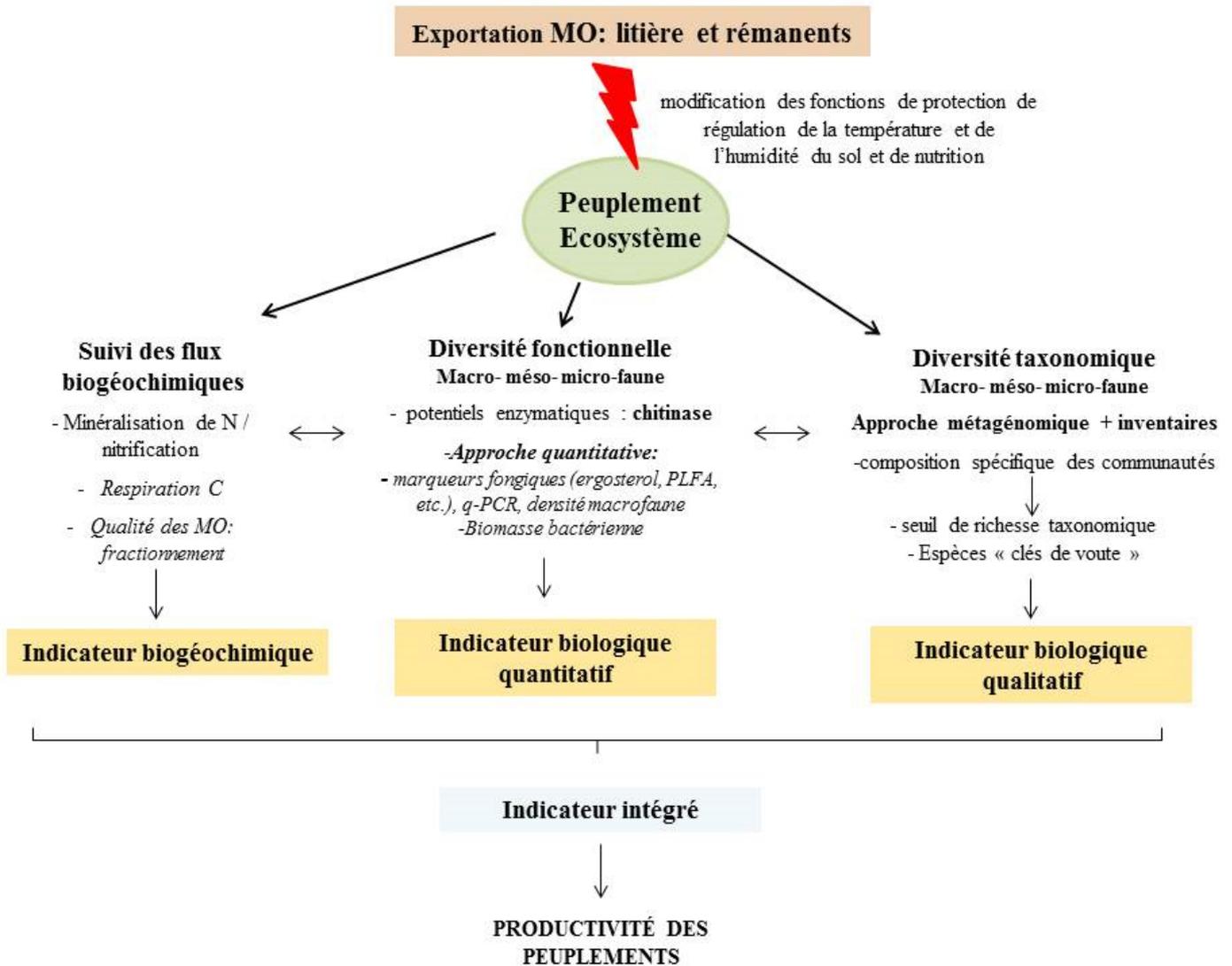


Figure VI.1 : Indicateurs fonctionnels pour le suivi des impacts des exportations de matière organique à moyen et long terme au niveau des flux biogéochimiques, de la diversité fonctionnelle et de la richesse taxonomique. Les paramètres à mettre en place et à développer dans la perspective de monitoring du réseau MOS sont mentionnés en italique.

7. Références

- Achat, D.L., Deleuze, C., Landmann, G., Pousse, N., Ranger, J., Augusto, L., 2015. Quantifying consequences of removing harvesting residues on forest soils and tree growth – A meta-analysis. *Forest Ecology and Management* 348, 124–141.
- Allison, S.D., Martiny, J.B., 2008. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 11512–11519.
- Allmér, J., Stenlid, J., Dahlberg, A., 2009. Logging-residue extraction does not reduce the diversity of litter-layer saprotrophic fungi in three Swedish coniferous stands after 25 years. *Canadian Journal of Forest Research* 39, 1737–1748.
- Alster, C.J., German, D.P., Lu, Y., Allison, S.D., 2013. Microbial enzymatic responses to drought and to nitrogen addition in a southern California grassland. *Soil Biology and Biochemistry* 64, 68–79.
- Andersson, M., Kjøller, A., Struwe, S., 2004. Microbial enzyme activities in leaf litter, humus and mineral soil layers of European forests. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 1527–153
- Andrianarisoa K.S., 2009. Minéralisation de l'azote et nitrification dans les écosystèmes forestiers : effet du type de sol et de l'essence forestière. Mémoire de thèse, Université Henri Poincaré, Nancy, pp 250
- Baldrian, P., Merhautová, V., Petránková, M., Cajthaml, T., Šnajdr, J., 2010. Distribution of microbial biomass and activity of extracellular enzymes in a hardwood forest soil reflect soil moisture content. *Applied Soil Ecology* 46, 177–182.
- Baldrian, P., Šnajdr, J., Merhautová, V., Dobiášová, P., Cajthaml, T., Valášková, V., 2013. Responses of the extracellular enzyme activities in hardwood forest to soil temperature and seasonality and the potential effects of climate change. *Soil Biology and Biochemistry* 56, 60–68.
- Barnard, R.L., Osborne, C.A., Firestone, M.K., 2013. Responses of soil bacterial and fungal communities to extreme desiccation and rewetting. *ISME J* 7, 2229–2241.
- Barthès BG, Brunet D, Rabary B, Ba O, Villenave C, 2011. Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) could be used for characterization of soil nematode community. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1649–1659.
- Buée, M., Courty, P.E., Mignot, D., Garbaye, J., 2007. Soil niche effect on species diversity and catabolic activities in an ectomycorrhizal fungal community. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 1947–1955.
- Buée, M., Maurice, J.-P., Zeller, B., Andrianarisoa, S., Ranger, J., Courtecuisse, R., Marçais, B., Le Tacon, F., 2011. Influence of tree species on richness and diversity of epigeous fungal communities in a French temperate forest stand. *Fungal Ecology* 4, 22–31.
- Cécillon, L., Barthès BG, Gomez C, Ertlen D, Genot V, Hedde M, Stevens A, Brun JJ, 2009. Assessment and monitoring of soil quality using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *European Journal of Soil Science* 60, 770–784.
- Dhôte J.-F. 1995 Définition de scénarios d'éclaircie pour le hêtre et le chêne. *Revue Forestière Française*, XLVII, 106-110.
- Díaz, S., Cabido, M., 2001. Vive la différence: plant functional diversity matters to ecosystem processes. *Trends in Ecology & Evolution* 16, 646–655.

- Dickie, I.A., Xu, B., Koide, R.T., 2002. Vertical niche differentiation of ectomycorrhizal hyphae in soil as shown by T-RFLP analysis. *New Phytologist* 156, 527–535.
- Ellstrom, M., Shah, F., Johansson, T., Ahren, D., Persson, P., Tunlid, A., 2015. The carbon starvation response of the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*. *FEMS Microbiology Ecology* 91, fiv027–fiv027.
- Hartmann, M., Lee, S., Hallam, S.J., Mohn, W.W., 2009. Bacterial, archaeal and eukaryal community structures throughout soil horizons of harvested and naturally disturbed forest stands. *Environ. Microbiol.* 11, 3045–3062
- Hartmann, M., Howes, C.G., VanInsberghe, D., Yu, H., Bachar, D., Christen, R., Nilsson, R.H., Hallam, S.J., Mohn, W.W., 2012. Significant and persistent impact of timber harvesting on soil microbial communities in Northern coniferous forests. *The ISME Journal* 6, 2199–2218.
- Hounzandji, A.P.I., Jonard, M., Nys, C., Saint-André, L., Ponette, Q., 2015. Improving the robustness of biomass functions: from empirical to functional approaches. *Annals of Forest Science* 72, 795–810.
- Joner, F., Specht, G., Müller, S.C., Pillar, V.D., 2011. Functional redundancy in a clipping experiment on grassland plant communities. *Oikos* 120, 1420–1426.
- Le Moguedec, G. Dhote, J-F., 2012. Fagacees: a tree-centered growth and yield model for sessile oak (*Quercus petraea* L.) and common beech (*Fagus sylvatica* L.) ANNALS OF FOREST SCIENCE Volume: 69 Issue: 2 Pages: 257-269
- Lehto, T., Zwiazek, J. J., 2011. Ectomycorrhizas and water relations of trees: a review. *Mycorrhiza*, 21(2), 71-90.
- Lindahl, B.D., Ihrmark, K., Boberg, J., Trumbore, S.E., Högberg, P., Stenlid, J., Finlay, R.D., 2007. Spatial separation of litter decomposition and mycorrhizal nitrogen uptake in a boreal forest. *New Phytologist* 173, 611–620.
- Ludwig B, Sawallisch A, Heinze S, Joergensen RG, Vohland M., 2015. Usefulness of middle infrared spectroscopy for an estimation of chemical and biological soil properties—Underlying principles and comparison of different software packages. *Soil Biology and Biochemistry*, 86, 116-125.
- Ludwig, B., Khanna, P., Bauhus, J., Hopmans, P., 2002. Near infrared spectroscopy of forest soils to determine chemical and biological properties related to soil sustainability. *Forest Ecology and Management* 171, 121–132.
- MacArthur RH, Wilson EO., 1967. *The theory of islands biogeography*. Princeton.
- Miller, M., Palojarvi, A., Rangger, A., Reeslev, M., Kjoller, A., 1998. The use of fluorogenic substrates to measure fungal presence and activity in soil. *Applied and Environmental Microbiology* 64, 613–617.
- Mohn, W.W., 2012. Significant and persistent impact of timber harvesting on soil microbial communities in Northern coniferous forests. *The ISME Journal* 6, 2199–2218.
- Mosse, B., 1973. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Annual Review of Phytopathology* 11, 171–196.
- Nambiar, E.K.S., Center for International Forestry Research (Eds.), 2008. Site management and productivity in tropical plantation forests: proceedings of workshops in Piracicaba (Brazil) 22-26 November 2004 and Bogor (Indonesia) 6-9 November 2006. Center for International Forestry Research, Bogor, Indonesia.
- Olsson, P. A., Larsson, L., Bago, B., Wallander, H., Van Aarle, I. M., 2003. Ergosterol and fatty acids for biomass estimation of mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 159(1), 7-10.

- Patzold, S., Mertens, F.M., Bornemann, L., Koleczek, B., Franke, J., Feilhauer, H., Welp, G., 2008. Soil heterogeneity at the field scale: a challenge for precision crop protection. *Precision Agriculture* 9, 367–390.
- Pillar, V.D., Blanco, C.C., Müller, S.C., Sosinski, E.E., Joner, F., Duarte, L.D.S., 2013. Functional redundancy and stability in plant communities. *Journal of Vegetation Science* 24, 963–974.
- Ponge, J-F., 2013. Plant-soil feedbacks mediated by humus forms: A review. *Soil Biology and Biochemistry* 57, 1048-1060
- Ponette, Q., Ranger, J., Ottorini, J.-M., Ulrich, E., 2001. Aboveground biomass and nutrient content of five Douglas-fir stands in France. *Forest Ecology and Management* 142, 109–127.
- Rajala, T., Peltoniemi, M., Pennanen, T., Mäkipää, R., 2012. Fungal community dynamics in relation to substrate quality of decaying Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) logs in boreal forests. *FEMS Microbiology Ecology* 81, 494–505
- Rawls, W.J., Pachepsky, Y.A., Ritchie, J.C., Sobecki, T.M., Bloodworth, H., 2003. Effect of soil organic carbon on soil water retention. *Geoderma* 116, 61–76.
- Ruess, L., Schmidt, I.K., Michelsen, A., Jonasson, S., 2001. Manipulations of a microbial based soil food web at two arctic sites — evidence of species redundancy among the nematode fauna? *Applied Soil Ecology* 17, 19–30.
- Russell, C.A., Angus, J.F., Batten, G.D., Dunn, B.W., Williams, R.L., 2001. The potential of NIR spectroscopy to predict nitrogen mineralization in rice soils. *Plant and Soil* 247, 243–252.
- Saint-André, L., Laclau, J.P., Deleporte, P., Gava, J.L., Gonçalves, J.L.M., Mendham, D., Nzila, J.D., Smith, C., Du Toit, B., Xu, D.P., others, 2008. Slash and litter management effects on Eucalyptus productivity: a synthesis using a growth and yield modelling approach, in: *Site Management and Productivity in Tropical Plantation Forests: Proceedings of Workshops in Piracicaba (Brazil) 22–26 November 2004 and Bogor (Indonesia), 6–9 November 2006*. pp. 173–189.
- Sallèles, J., 2014. Étude du devenir de l'azote dérivé des litières dans le sol et dans l'arbre sur le moyen terme dans les forêts de hêtres par traçage isotopique et modélisation. (Thèse de doctorat, Université de Lorraine, FRA).
- Sariyildiz, T., Anderson, J.M., 2005. Variation in the chemical composition of green leaves and leaf litters from three deciduous tree species growing on different soil types. *Forest Ecology and Management* 210, 303–319.
- Scattolin, L., Montecchio, L., Mosca, E., Agerer, R., 2008. Vertical distribution of the ectomycorrhizal community in the top soil of Norway spruce stands. *European Journal of Forest Research* 127, 347–357.
- Šnajdr, J., Valášková, V., Merhautová, V., Herinková, J., Cajthaml, T., Baldrian, P., 2008. Spatial variability of enzyme activities and microbial biomass in the upper layers of *Quercus petraea* forest soil. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 2068–2075.
- Scherer, G., Zabowski, D., Java, B., Everett, R., 2000. Timber harvesting residue treatment. Part II. Understory vegetation response. *Forest Ecology and Management* 126, 35–50.
- Soriano-Disla JM, Janik LJ, Viscarra Rossel RA, Macdonald LM, McLaughlin MJ, 2014. The Performance of Visible, Near-, and Mid-Infrared Reflectance Spectroscopy for Prediction of Soil Physical, Chemical, and Biological Properties. *Applied Spectroscopy Reviews* 49, 139–186.
- Tatzber, M., Mutsch, F., Mentler, A., Leitgeb, E., Englisch, M., Zehetner, F., Djukic, I., Gerzabek, M.H., 2011. Mid-infrared spectroscopy for topsoil layer identification according to litter type and

decompositional stage demonstrated on a large sample set of Austrian forest soils. *Geoderma* 166, 162–170.

Terhoeven-Urselmans, T., Schmidt, H., Georg Joergensen, R., Ludwig, B., 2008. Usefulness of near-infrared spectroscopy to determine biological and chemical soil properties: Importance of sample pre-treatment. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 1178–1188.

Weintraub, S.R., Wieder, W.R., Cleveland, C.C., Townsend, A.R., 2013. Organic matter inputs shift soil enzyme activity and allocation patterns in a wet tropical forest. *Biogeochemistry* 114, 313–326.

Wernsdorfer, H. Jonard, M. Genet, A. Legout, A. Nys, C] . Saint-Andre, L. Ponette, Q., 2014. Modelling of nutrient concentrations in roundwood based on diameter and tissue proportion: Evidence for an additional site-age effect in the case of *Fagus sylvatica* FOREST ECOLOGY AND MANAGEMENT, Volume: 330, Pages: 192-204

Wösten, J.H.M., Lilly, A., Nemes, A., Le Bas, C., 1999. Development and use of a database of hydraulic properties of European soils. *Geoderma* 90, 169–185.

Zeller, B., Colin-Belgrand, M., Dambrine, E., Martin, F., Bottner, P., 2000. Decomposition of ¹⁵N-labelled beech litter and fate of nitrogen derived from litter in a beech forest. *Oecologia* 123, 550–559.

Résumé

Les rémanents de coupe constituent une ressource non exploitée potentiellement utilisable à des fins énergétiques, mais aussi un compartiment essentiel pour la fertilité et la biodiversité des sols forestiers. Des études en zones tropicales ou boréales prouvent les impacts négatifs de telles pratiques sur les écosystèmes forestiers. Le réseau Matières Organiques des Sols (MOS) a été élaboré afin d'évaluer les effets à court et long terme des manipulations de matière organique sur les peuplements forestiers tempérés.

Cette thèse a deux objectifs : i) élaborer la méthodologie nécessaire pour caractériser la variabilité des écosystèmes puis mettre en œuvre le dispositif expérimental national de manipulations de matière organique en tenant compte de cette variabilité et ii) décrire les impacts à très court terme des prélèvements de biomasse sur le fonctionnement des sols forestiers. Ce second objectif s'articule en deux volets: une première partie vise à évaluer l'impact de ces pratiques sylvicoles sur l'équilibre des cycles biogéochimiques et la diversité des communautés fongiques du sol *in situ*. Une seconde échelle d'étude, en conditions contrôlées, concerne le décryptage des interactions trophiques entre l'arbre, les champignons ectomycorhiziens associés, et les champignons lignivores au cours de la dégradation du bois.

Ce premier suivi des sites du réseau MOS nous renseigne sur la réactivité à très court terme des sols forestiers en zone tempérée. L'absence de tendance claire confirme une préservation de l'équilibre des cycles sur un faible laps de temps mais permet de dégager des indicateurs fonctionnels qui semblent répondre rapidement aux perturbations. Un suivi annuel consolidera ces observations sur l'ensemble du dispositif MOS, incluant les indicateurs biologiques qui pourront être mis en évidence sur les communautés fongiques.

Mots-clés : durabilité des écosystèmes – exportation de biomasse – sol forestier – flux biogéochimiques - biodiversité fongique – variabilité spatiale – réseau trophique

Abstract

Logging residues represent a non-exploited supply which could be used for energetic purpose, but they are also a relevant compartment for forest soil fertility and biodiversity. Some studies in tropical and boreal context have highlighted the negative impacts of these practices on the forest ecosystems. The MOS network has been set up to evaluate the effects of organic matters manipulations on temperate forest stands at short and long term.

This thesis has two objectives: i) to set up the methodology necessary to characterized the ecosystems' variability and then, to implement the national experimental design of organic matter manipulation by taking into account this variability and ii) to describe the very short terms impacts of organic matter removal on the forest soil cycling. This second aim is organized into two axes: a first part evaluates the impacts of these sylvicultural practices on the biogeochemical cycles and the diversity of fungal communities. A second study scale, in controlled conditions, deals with the understanding of the trophic interactions between trees, ectomycorrhizal fungi and saprotrophic fungi during the wood decaying process.

The absence of clear trend confirms the persistence in the soil functioning at very short term. This first monitoring permitted to identify some functional indicators. A regular monitoring will strengthen these observations by introducing some biological indicators on fungal communities.

Keywords: ecosystem sustainability – biomass exportations –forest soil – biogeochemical fluxes – soil fungal biodiversity – spatial variability – soil foodweb