



**HAL**  
open science

**Le carbone au cœur du fonctionnement microbien des  
sols : comprendre et piloter les interactions  
MOS-communautés microbiennes pour renforcer la  
disponibilité et l'efficacité d'utilisation des éléments  
minéraux (N et S) dans les agroécosystèmes**

Séverine Piutti

► **To cite this version:**

Séverine Piutti. Le carbone au cœur du fonctionnement microbien des sols : comprendre et piloter les interactions MOS-communautés microbiennes pour renforcer la disponibilité et l'efficacité d'utilisation des éléments minéraux (N et S) dans les agroécosystèmes. Agronomie. Université de lorraine, 2020. tel-03115539

**HAL Id: tel-03115539**

**<https://hal.science/tel-03115539>**

Submitted on 19 Jan 2021

**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.

Université de Lorraine  
Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires  
UMR 1121 UL/INRAE Laboratoire Agronomie et Environnement  
2 avenue de la Forêt de Haye, 54500 Vandoeuvre les Nancy



Ecole Doctorale Sciences et Ingénierie des Ressources Naturelles

## Habilitation à diriger des recherches

**Le carbone au cœur du fonctionnement microbien des sols :  
comprendre et piloter les interactions MOS-communautés  
microbiennes pour renforcer la disponibilité et l'efficacité  
d'utilisation des éléments minéraux (N et S) dans les  
agroécosystèmes**

Présentée par  
**Séverine PIUTTI**  
Soutenance le 18 décembre 2020

**Membres du jury :**

**Rapporteurs :**

Isabelle Bertrand, Directrice de Recherche INRAE  
Alain Brauman, Directeur de Recherche IRD  
Jean-Christophe Avice, Professeur, Université de Caen

**Examineurs :**

Sylvie Recous, Directrice de Recherche INRAE  
Fabrice Martin-Laurent, Directeur de Recherche INRAE  
Emile Benizri, Professeur, Université de Lorraine

**Parrain HDR :**

Cyril Feidt, Professeur, Université de Lorraine

## Table des matières

<b>PARTIE 1 : BILAN DES ACTIVITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE .....</b>	<b>1</b>
<b>1- Curriculum vitae .....</b>	<b>1</b>
1.1- <i>Etat civil .....</i>	1
1.2- <i>Cursus professionnel, fonctions exercées, mobilité .....</i>	1
1.3- <i>Diplômes, formations complémentaires.....</i>	2
1.4- <i>Autres.....</i>	3
<b>2- Activités d'enseignement.....</b>	<b>3</b>
2.1- <i>Participation à l'enseignement de l'établissement (ENSAIA) .....</i>	3
2.1.1- <i>L'enseignement à l'ENSAIA .....</i>	3
2.1.2- <i>Services d'enseignement, réalisé pédagogique.....</i>	4
2.1.3- <i>Démarches pédagogiques, responsabilités assumées .....</i>	6
2.1.4- <i>Des enseignement intégrés dans une problématique Recherche, développement et innovation.....</i>	13
2.1.5- <i>Encadrement d'étudiants pour l'enseignement (hors activités de recherche).....</i>	14
2.2- <i>Création de documents pédagogiques et publications d'enseignement.....</i>	14
2.3- <i>Formation continue ou professionnelle .....</i>	14
2.4- <i>Conclusion et perspectives.....</i>	15
<b>3- Activités de recherche et de développement.....</b>	<b>17</b>
3.1- <i>Contexte général.....</i>	17
3.1.1- <i>Des révolutions agricoles à l'agriculture écologiquement intensive.....</i>	17
3.1.2- <i>La multifonctionnalité des sols.....</i>	19
3.2- <i>Objectifs et thèmes abordés.....</i>	22
3.2.1- <i>La rhizosphère, un hot-spot de dégradation des herbicides dans les sols ?.....</i>	22
3.2.1.1- <i>Eléments contextuels.....</i>	22
3.2.1.2- <i>Objectif général et hypothèses.....</i>	25
3.2.1.3- <i>Etape 1 : Criblage de différents couples plantes-herbicides en vue d'identifier des effets rhizosphères sur la biodégradation des herbicides .....</i>	26
3.2.1.4- <i>Etape 2 : Etude du couple modèle maïs–atrazine afin de mieux comprendre l'effet de la plante et notamment de son activité racinaire sur la sélection des micro-organismes dégradants et in fine sur la mise en place de la biodégradation accélérée .....</i>	27
3.2.2- <i>Les micro-organismes impliqués dans le cycle interne du soufre dans les sols : influence du C et du S sur la taille, la diversité et l'activité de ces communautés microbiennes fonctionnelles</i>	30
3.2.2.1- <i>Eléments contextuels et cadre conceptuel de recherche sur le déterminisme des flux de S .....</i>	30
3.2.2.2- <i>Caractérisation des communautés microbiennes fonctionnelles (questions 1 et 2, figure 16) .....</i>	33

3.2.2.3- Les effets du C sur les flux de minéralisation et d'immobilisation de S (question 3, figure 16) .....	37
3.2.2.4- Variabilité spatio-temporelle de l'activité ARS à l'échelle de la parcelle agricole (question 4, figure 16) .....	41
<i>3.2.3-La diversité végétale et les pratiques agricoles, des filtres susceptibles de moduler les communautés microbiennes impliquées dans la décomposition des MOS et d'améliorer la fourniture en N et S pour les plantes ? .....</i>	<i>43</i>
3.2.3.1- Eléments contextuels et cadre conceptuel de recherche sur l'effet des systèmes de culture sur les indicateurs microbiens des sols en lien avec la fertilité des sols.....	43
3.2.3.2- Etude des interactions entre les plantes et les communautés microbiennes impliquées dans la dynamique de N et S : cas des écosystèmes prairiaux.....	46
3.2.3.3- Etude des interactions entre les plantes et les communautés microbiennes impliquées dans la dynamique de N et S : cas des systèmes de culture annuel .....	49
<i>3.2.4-Les effets des systèmes de cultures et des variables pédoclimatiques sur les indicateurs microbiens et la fourniture en éléments minéraux des sols .....</i>	<i>52</i>
3.3- Conclusion générale.....	63
3.4- Production scientifique et responsabilités administratives .....	66
3.4.1- Liste des publications dans des revues internationales de rang A.....	66
3.4.2- Liste des publications dans des revues de transfert (articles, ouvrages, chapitres d'ouvrage, guides techniques, ..).....	68
3.4.3- Chapitres d'ouvrage .....	69
3.4.4- Conférences invitées.....	69
3.4.5- Communications orales dans un congrès international ou national.....	69
3.4.6- Communications sous forme de posters dans un congrès international ou national .....	71
3.4.7- Communications orales dans des manifestations grand public.....	74
3.5- Liste des projets de recherche.....	74
3.5.1- Participation à des programmes de recherche nationaux et internationaux .....	74
3.5.2- Contrats ou projets de recherche partenariale .....	75
3.5.3- Expertise de programmes de recherche et activités de review .....	75
3.6- Encadrement de la recherche .....	75
3.6.1- Encadrement de doctorants.....	75
3.6.2- Encadrement de post doctorants .....	76
3.6.3- Participation à des comités de thèse.....	76
3.6.4- Encadrement de stagiaires.....	76
3.7- Responsabilités administratives et scientifiques : .....	78
3.8- Activité d'expertise en lien avec le développement.....	79
<b>PARTIE 2 : PROJET DE RECHERCHE.....</b>	<b>80</b>
<b>4- Comprendre et piloter les interactions MOS-communautés microbiennes-plantes pour renforcer la disponibilité et l'efficacité d'utilisation des éléments minéraux (N et S) dans les agroécosystèmes.....</b>	<b>80</b>
4.1- Introduction .....	80

4.2- La stœchiométrie écologique, un cadre conceptuel pour mieux comprendre les interactions entre les MOS et les communautés microbiennes ?.....	83
4.2.1- Notions de stœchiométrie microbienne.....	83
4.2.2- Les facteurs de variation de la stœchiométrie et les stratégies microbiennes d'ajustement .....	85
4.2.3- Notion d'efficacité d'utilisation du carbone et des éléments minéraux dans les écosystèmes .....	86
4.3- Les effets des digestats de méthanisation sur l'efficacité d'utilisation de N par les plantes cultivées et sur le fonctionnement microbien des sols et la résultante à court et moyen terme sur le bouclage des cycles C et N. ....	88
4.3.1- La méthanisation un levier pour assurer la transition agroécologique et énergétique des systèmes agricoles ?.....	88
4.3.2- Les digestats de méthanisation peuvent-ils contribuer à améliorer le bouclage des cycles C et N ?.....	89
4.4- Les associations végétales pour renforcer la fourniture de nutriments (N et S) et leur efficacité d'utilisation par les plantes cultivées dans un contexte de réduction de la dépendance des systèmes de cultures aux engrais de synthèse .....	94
4.4.1- Quelques éléments de contexte .....	94
4.4.2- La diversité végétale, un effecteur des interactions avec les communautés microbiennes et du recyclage des nutriments ?.....	95
4.4.3- L'agroforesterie, un modèle pour étudier le rôle des communautés microbiennes dans le recyclage des nutriments et les interactions plante-plante ?.....	96
4.4.4- Objectifs, hypothèses et site expérimental .....	98
4.4.4.1- Evolution temporelle de la diversité des communautés microbiennes dans les associations et effet de la variabilité spatiale sur les variables du sol en lien avec la dynamique des pools de N et S .....	99
4.4.4.2- Caractérisation des mécanismes à l'origine des interactions plante-plante au niveau souterrain et du rôle des communautés microbiennes l'efficacité d'utilisation de N et S. ....	100
<b>5- Conclusion générale .....</b>	<b>103</b>
<b>6- Bibliographie citée.....</b>	<b>104</b>

## Liste des figures

Figure 1 : Programme de formation de l'ENSAIA.....	4
Figure 2 : Les 3 grands domaines de la formation ENSAIA et les spécialisations associées. ....	4
Figure 3 : Répartition de mes enseignements sur l'ensemble de la formation .....	5
Figure 4 : Exemple de poster réalisé par les étudiants dans le cadre du TD d'analyse de cohérence des systèmes de culture. ....	9
Figure 5 : Exemple de poster réalisé par les étudiants dans le cadre du TD sur les indicateurs de l'état hydrique des végétaux. ....	10
Figure 6 : Des essais R&D comme support de projets et de travaux pratiques.....	13
Figure 7 : Démarche pédagogique mise en œuvre pour permettre une intégration efficiente des connaissances du peuplement végétal au système de culture.....	15

Figure 8 : Nombre d'articles (n=935 entre 1975 et 2014) reliant les propriétés des sols aux services écosystémiques (SE). Le nombre présent au-dessus de chaque histogramme représente le nombre d'articles considérés par catégorie de propriétés du sol (Adhikari et Hartemink, 2016). .....	20
Figure 9 : Les recherches conduites sur la période 1998-2011 sur les effets du C labile sur les communautés microbiennes fonctionnelles du sol, impliquées soit dans la dégradation de l'atrazine ou la minéralisation des esters de sulfate.....	21
Figure 10 : Les recherches conduites sur la période 2012-2020 sur les effets de la diversité végétale et des systèmes de culture sur les communautés microbiennes impliquées dans la décomposition des MOS et la résultante en termes de fourniture de N et S. ....	21
Figure 11 : Evolution des tonnages des substances actives vendues entre 1998 à 2018.....	22
Figure 12 : Principaux phénomènes conditionnant le devenir des produits phytosanitaires .....	23
Photographie 1 : Dispositif expérimental en serre .....	26
Figure 13 : Biomasse microbienne carbonée mesuré en sols nu et rhizosphérique pour différentes espèces cultivées sur plusieurs cycles de végétation (moyenne $\pm$ SD, n =15) (Piutti et al., 2002a). ....	27
Figure 14 : Cinétiques de minéralisation d'atrazine marquée au $^{14}\text{C}$ sur le cycle dans les sols nu et rhizosphériques pré-traités ou non avec de l'atrazine (Piutti et al., 2002b) .....	27
Figure 15 : Relation entre la détection dans le sol du gène <i>atzC</i> et la cinétique de minéralisation d'atrazine marquée au $^{14}\text{C}$ sur le cycle dans des sols nu (SNT) ou rhizosphérique (M) pré-traités avec de l'atrazine (Piutti et al., 2002b).....	28
Figure 16 : Les différentes questions abordées sur la période 2003-2011 en lien les effets du C et du S sur les communautés microbiennes impliquées dans la minéralisation du S organique .....	30
Figure 17 : Les différentes sources d'alimentation en S pour les plantes (Kertesz et al., 2007).....	31
Figure 18 : Schéma des processus régissant le cycle interne de S dans les sols .....	33
Figure 19 : Modèle proposé par Mc Gill et Cole et modifié pour positionner les deux voies de minéralisation (biologique et biochimique) du S organique dans les sols.....	33
Figure 20 : Photographie d'un étalement de suspension-dilution sur milieu gélosé ne contenant comme source de S un ester de sulfate couplé à un chromogène (X-sulf). La coloration bleue permet de repérer les souches microbiennes capables d'hydrolyser ce substrat grâce à la présence d'une activité ARS.....	34
Figure 21 : Les deux approches utilisées en parallèle pour étudier les caractéristiques fonctionnelles de la communauté bactérienne ARS.....	35
Figure 22 : Evolution de la densité de la communauté bactérienne cultivable fonctionnelle ARS et de l'activité ARS au cours de la phénologie du colza et de l'orge. ....	35
Figure 23 : Comparaison, par Analyse en Composantes Principales, de la structure génétique de la communauté bactérienne fonctionnelle ARS dans la rhizosphère d'orge et de colza, au cours des différents stades de développement des plantes.....	36
Figure 24 : Hypothèses relatives aux effets de résidus de culture présentant des compositions biochimiques et des ratio C/S différents sur l'activité ARS.....	39
Figure 25 : Evolution temporelle de la biomasse microbienne carbonée (A), de l'immobilisation de S (B) et de l'activité ARS dans des sols amendés avec de résidus de blé (4g équivalent C $\text{kg}^{-1}$ de sol) ou du glucose (4g équivalent C $\text{kg}^{-1}$ de sol). Le témoin correspond au sol non amendé. ....	40
Figure 26 : Relation entre l'accumulation nette de sulfate dans le sol, calculé 168 jours après le début de l'incubation et le rapport C/S initial du résidu. L'accumulation nette a été calculée comme la différence entre la teneur en S extractible du résidu et le sol témoin pour les résidus de moutarde (M), féтуque (F), blé (W) et hêtre (B). ....	40
Figure 27 : Dispositif expérimental et principaux résultats .....	41
Figure 28 : Etapes de décomposition des MOS (d'après Cookson et al., 2007).....	45
Figure 29 : Hypothèses de travail sur les effets des stratégies écologiques abordées via les traits fonctionnels sur les traits microbiens et la résultante en termes de flux nets de minéralisation et immobilisation de N et S (d'après le modèle de Kinzig et Harte, 1998) .....	47
Figure 30 : Relation entre la teneur en N et S des parties aériennes (Legay et al., 2014b).....	48

Figure 31 : Abondance des communautés bactériennes totales sous les différentes espèces selon les groupes fonctionnels et les stratégies écologiques considérées (N=4 par espèce). Les groupes fonctionnels sont délimités par les pointillés.....	48
Figure 32 : Activité ARS sous différents mélanges variant selon le niveau de diversité fonctionnelle	49
Figure 33 : Schéma conceptuel de l'effet du pois de printemps sur les communautés microbiennes du sol et les communautés d'adventices (Romillac 2015) .....	50
Figure 34 : Analyse canonique de redondance (RDA) mettant en relation les activités enzymatiques et les traits racinaires. ....	50
Figure 35 : Evolution temporelle de l'activité protéase sur des sols amendés ou non avec des résidus de culture de pois.....	51
Figure 36 : Dispositif expérimental mis en place sur la période 2008-2013. Deux systèmes de culture ont été comparés (rotation 3 ans vs rotation 5 ans avec introduction d'un pois de printemps). .....	53
Figure 37 : Arbre de régression multiple des abondances (A) et des activités microbiennes (B) expliquées par la date d'échantillonnage (Date) et l'espèce cultivée (Crop).....	54
Figure 38 : Carte à dire d'experts sur la fertilité des sols agricoles et représentativité des critères pris en compte par les experts pour positionner les différences de fertilité des sols à l'échelle nationale.	56
Figure 39 : Pourcentage de citation des 5 pratiques les plus favorables pour la fertilité des sols .....	56
Figure 40 : Localisation et caractéristiques des différents sites d'échantillonnage.....	57
Figure 41 : Analyse en composantes principales (normée) réalisée sur les indicateurs microbiens - biomasse microbienne et activités enzymatiques) mesurées sur différentes parcelles des sites de Lusignan et Colmar. ....	59
Figure 42 : Architecture du modèle PSL-PM utilisé pour formaliser les relations entre les différentes variables latentes et le potentiel de minéralisation de N .....	60
Figure 43 : Potentiel de minéralisation (exprimé en N minéralisé / % Ntotal) mesuré sur les différents sites.....	61
Figure 44 : Relations entre les différentes variables latentes et le potentiel de minéralisation de N..	61
Figure 45 : Schéma conceptuel des SE rendus par les sols (d'après Dominati et al., 2010 ; Adhikari et Hartmink, 2016).....	80
Figure 46 : Les différentes fonctions des MOS.....	63
Figure 47 : Les différentes fonctions microbiennes susceptibles d'améliorer la croissance des plantes .....	64
Figure 48 : Modèle de continuum des MOS.....	64
Figure 49: Modèle conceptuel de stœchiométrie.....	83
Figure 50 : Carte des unités de méthanisation en fonctionnement dans le Grand-Est .....	89
Figure 51 : Localisation et caractéristiques des sites expérimentaux participant à l'étude. ....	91
Figure 52 : Les différents sites mobilisés à l'échelle de la région Grand Est pour le projet.....	99
Figure 53 : Caractérisation des effets directs et indirects des communautés microbiennes sur les interactions plante-plante dans les associations. ....	101

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Récapitulatif des heures d'enseignement effectuées sur la période 2007-2019 .....	5
<b>Tableau 2</b> : Liste des modules dont j'ai assumé la responsabilité depuis 2003.....	6
<b>Tableau 3</b> : Liste des modules dans lesquels j'interviens depuis 2003 .....	6
<b>Tableau 4</b> : Listes des projets pro encadrés sur la période 2010-2020.....	7
<b>Tableau 5</b> : Listes des projets pro encadrés sur la période 2010-2020.....	8
<b>Tableau 6</b> : Projets proposés dans le cadre du module "Outils d'aide à la décision en productions végétales" depuis 2010. ....	11
<b>Tableau 7</b> : Sujets proposés dans le cadre des projets expérimentaux et thématiques depuis 2010..	12
<b>Tableau 8</b> : Exemples de définitions de la fertilité des sols. ....	44
<b>Tableau 9</b> : Moyennes $\pm$ écart-type des paramètres physico-chimiques des sols (0-15 cm) pour les six dispositifs expérimentaux. Pour chaque colonne, des lettres différentes indiquent une différence significative entre les dispositifs (Anova, p-value < 0,05 avec ajustement de Tukey). MS : matière sèche ; CaCO <sub>3</sub> : calcaire total ; C org. : carbone organique ; N : azote. ....	57
<b>Tableau 10</b> : Moyenne $\pm$ écart-type des variables microbiennes des sols (0-15 cm) pour les six dispositifs expérimentaux. ....	58

## Liste des photographies

<b>Photographie 1</b> : Dispositif expérimental en serre .....	26
--	----



## AVANT-PROPOS

Alors voilà, me voici enfin arrivée au bout de la rédaction de ce document pour lequel les premières ébauches datent de 2014. Le moins que je puisse dire est que ce ne fut pas un exercice facile et que la crise sanitaire de cette année 2020, si dure soit-elle, aura au moins eu un effet bénéfique voire salvateur sur la rédaction de ce document. La rédaction de l'HDR est l'occasion de faire le point sur cette première partie de ma carrière qui aura été finalement déjà bien remplie. La particularité de l'enseignant chercheur est de trouver l'équilibre entre ses missions d'enseignement et de recherche. Vous verrez à la lecture de ce document que dans mon cas ces deux activités sont thématiquement très dissociées. Au-delà de la schizophrénie que cette dissociation peut engendrer parfois, je crois que cela constitue une force dans le sens où cela me permet de positionner mes questions de recherche dans les enjeux de la transition agroécologique des systèmes de production agricole. Le dénominateur commun de mes activités de recherche depuis plus de 20 ans tient en une seule lettre C pour ce carbone, qui permet de soutenir la productivité et les processus écologiques des écosystèmes. J'ai essayé au travers de ce mémoire de retracer les faits marquants et les originalités des travaux que j'ai conduit sans rechercher l'exhaustivité.

Je tiens à remercier les membres du jury d'avoir accepté d'examiner mes travaux en vue de l'obtention de l'HDR. Merci à Isabelle, Alain et Jean-Christophe d'avoir accepté d'évaluer ce travail. La complémentarité est un mot clé du fonctionnement et de la résilience des écosystèmes et je ne doute pas que la complémentarité des disciplines que vous incarnez, les uns et les autres ne pourront que m'aider à avancer dans les approches décrites dans mon projet de recherche. Un merci particulier aux membres examinateurs : Fabrice « mon mentor » de doctorat qui a guidé mes premiers pas d'apprenti chercheur, Emile qui m'a donné l'opportunité de rejoindre le LAE et l'ENSAIA comme ATER puis MdC et Sylvie qui m'a sorti de la rhizosphère pour me permettre de découvrir tout l'intérêt du carbone autre que rhizosphérique. Chacun de vous trois m'ont permis de développer les qualités essentielles à la recherche, à savoir, poser des hypothèses scientifiques et construire un raisonnement, faire preuve de curiosité scientifique, de rigueur et d'exigence au quotidien. Je n'oublie pas Cyril qui a accepté de tenir le rôle de parrain de ce travail, indépendamment de l'éloignement que vous pourriez voir d'extérieur entre nos compétences tant en recherche qu'en enseignement. L'ENSAIA est une grande famille dans laquelle les complémentarités disciplinaires mais surtout humaines s'expriment et il était important pour moi d'avoir le regard extérieur d'un collègue bienveillant, franc et avec qui je partage des valeurs humaines communes. Un grand merci à toi Cyril, de m'avoir guidé dans cet exercice et de m'avoir poussé dans mes retranchements.

Mes remerciements vont également à l'ensemble des personnes (scientifiques, techniciens et étudiants) que j'ai eu l'opportunité de croiser pendant cette première tranche de mon parcours scientifique et qui m'ont permis, de par leur investissement et leur confiance, de me construire et d'en être là à ce jour. Un merci plus particulier à mes deux « mapis » qui se reconnaîtront et qui sont à mes côtés au LAE depuis mon recrutement en 2003 et à Alexandre Laflotte, directeur de la ferme expérimentale de la Bouzule.

Ceux qui me connaissent savent pertinemment que je ne peux pas boucler ce manuscrit sans une pensée très émue pour mon collègue et ami Bernard Amiaud disparu trop prématurément. Mes travaux de recherche ne seraient pas ce qu'ils sont actuellement sans le regard d'écologue que tu as porté sur eux dès 2008. Nous avons beaucoup discuté de ce projet d'HDR et à cet instant j'ai enfin l'impression d'honorer une de mes dernières promesses. Les concepts d'écologie intégrés dans ce document ne sont peut-être pas toujours aussi maîtrisés que lorsque tu les utilisais mais je suis persuadée que tu aurais apprécié les perspectives de recherche développées autour du rôle des communautés microbiennes dans les interactions écologiques entre les espèces. Je ne peux que te dédier ce travail.

Merci à mes proches pour leur attachement et soutien indéfectible au quotidien.

**PARTIE 1 : BILAN DES ACTIVITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE**

**1- Curriculum vitae**

**1.1- Etat civil**

Séverine PIUTTI  
 Née le 18 octobre 1975  
 Nationalité française  
 27 rue des Reîtres, 54170 Barisey au Plain  
 06 08 88 97 77

UMR 1121 ENSAIA – Université de Lorraine – INRAE, LAE  
 2, avenue de la Forêt de Haye, TSA 40602  
 54518 - Vandoeuvre les Nancy cedex  
 03 72 74 40 64  
 severine.piutti@univ-lorraine.fr

**1.2- Coursus professionnel, fonctions exercées, mobilité**

<p><b><u>Depuis septembre 2003</u></b></p>	<p><b><u>Maître de Conférences (68<sup>ème</sup> section du CNU) à l'École Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires (ENSAIA)</u></b>  <i>Enseignement : Service Sciences Végétales</i>  <i>Recherche : UMR 1121 – Agronomie et Environnement – Université de Lorraine INRAE Nancy Colmar</i>  <b>Equipe « Rhizosphère » de septembre 2003 à mai 2011</b>  <b>Equipe « AGISEM » depuis mai 2011</b>  <b>Ancienneté (au 01/01/2020) 16 ans et 4 mois</b>  <b>Echelon : 07</b>  <b>Classe normale</b></p>
<p><b><u>Septembre 2002- Août 2003</u></b></p>	<p><u>Demi-poste d'ATER à l'ENSAIA</u>  <i>Enseignement : Gestion de l'eau dans les agrosystèmes (physiologie et besoins de la plante, bilan hydrique, irrigation et drainage), gestion de la fertilisation</i>  <i>Recherche : UMR Agronomie et Environnement INPL-ENSAIA-INRA, Vandœuvre-lès-Nancy</i>  <i>Sujet de recherche : Caractérisation de la structure et de la diversité des communautés bactériennes présentes dans la rhizosphère d'une plante modèle (maïs) et évolution au cours de la phénologie. Rôle des rhizodépôts en tant qu'effecteurs de la structure des communautés microbiennes</i></p>
<p><b><u>Septembre 2001- Août 2002</u></b></p>	<p><u>Poste complet d'ATER à l'ENSAIA</u>  <i>Enseignement : Phytopathologie</i>  <i>Recherche : UMR Agronomie et Environnement INPL-ENSAIA-INRA, Vandœuvre-lès-Nancy</i></p>
<p><b><u>Septembre 1999- Août 2001</u></b></p>	<p><u>Attachée Temporaire Vacataire Université de Bourgogne (101 heures équivalent TD sur 2 ans)</u>  <i>Enseignement : Biologie Végétale</i></p>
<p><b><u>Octobre 1998- Août 2001</u></b></p>	<p><u>Thèse de doctorat Sciences Agronomiques INPL Nancy</u>  <i>Sujet : Evaluation de l'impact de la culture de plantes d'intérêt agronomique (blé, maïs, colza et soja) sur la biodégradation de produits phytosanitaires (atrazine, diclofop-méthyl, bentazone, diuron, isoproturon et pendiméthaline) dans le sol :</i></p>

	analyse phénoménologique et moléculaire de la stimulation de la biodégradation de l'atrazine dans la rhizosphère du maïs <i>Laboratoire d'accueil</i> : Laboratoire de Microbiologie des Sols, UMR Microbiologie des Sols/Geosol INRA/Université de Bourgogne
<b><u>Janvier - Août 1998</u></b>	<u>Stage de DEA</u> Etude de la croissance et de la production de furocoumarines chez <i>Ruta graveolens in vitro</i> <i>Laboratoire d'accueil</i> : Laboratoire Agronomie et Environnement, ENSAIA-INPL
<b><u>Juillet 1996</u></b>	<u>Stage de licence</u> Mise au point d'outils moléculaires adaptés à l'expression de la gamma-glutamyl transférase humaine <i>Laboratoire d'accueil</i> : Centre du Médicament (Université de Pharmacie, Nancy)
<b><u>Avril - Juillet 1995</u></b>	<u>Stage de fin d'études DUT</u> <i>Sujet</i> : Mise au point technique : méthode d'extraction des bactéries du sol et suivi de la minéralisation des constituants cellulaires microbiens <i>Laboratoire d'accueil</i> : Laboratoire de Microbiologie des Sols, INRA (Dijon)
<b><u>Juillet - Aout 1994</u></b>	<u>Stage ouvrier en exploitation viticole</u> <i>Sujet</i> : approche globale du fonctionnement de l'entreprise

### 1.3- Diplômes, formations complémentaires

#### Diplômes académiques

<b><u>2001</u></b>	<b>Docteur en Sciences Agronomiques à l'Institut National Polytechnique de Lorraine, mention honorable et les félicitations du jury</b> <i>Jury</i> : Enrique Barriuso, Directeur de recherche, INRA, INAPG Rapporteur Philippe Lemanceau, Directeur de recherche, INRA, Dijon Rapporteur Emile Benizri, Professeur, INPL-ENSAIA, Nancy Examineur Jean Guzzo, Professeur, ENSBANA, Dijon Examineur Rolf Huber, Docteur, BASF, Allemagne Examineur Fabrice Martin, Chargé de recherche, INRA, Dijon Examineur (co-directeur de thèse) Guy Soulas, Directeur de recherche, INRA, Dijon Examineur (directeur de thèse)
<b><u>1998</u></b>	DEA de Sciences Agronomiques, ENSAIA-INPL (mention TB)
<b><u>1997</u></b>	Maîtrise de Biologie des Populations et des Ecosystèmes, mention Environnement (mention AB), UFR.Sci.FA, Université de Metz
<b><u>1996</u></b>	Licence de Biologie des Organismes (mention AB), UFR.Sci.FA, Metz
<b><u>1995</u></b>	Diplôme Universitaire de Technologie de Biologie Appliquée, option Agronomie (mention AB), UHP Nancy I
<b><u>1993</u></b>	Baccalauréat scientifique, série D (mention AB)

#### Connaissance des langues étrangères

- Anglais : scientifique
- Allemand : notions

### Autres diplômes, formations

Formation INRAE : FROGS Analyse de donnée de séquençage 16S / ITS sous Galaxy (28 heures, 10-13 mars 2019)

Formation Arvalis : Peut-on se passer de glyphosate ? (21 janvier 2020)

Atelier Arvalis/GRDF : Les Cultures Intermédiaires à Vocation Energétique (16 janvier 2019)

Formation Arvalis : Les cultures intermédiaires pièges à Nitrates (1 journée, 2011)

Formation Arvalis : Glyphosate : raisonner et optimiser son emploi et ses alternatives (29 janvier 2015)

Formation Université de Lorraine : Assistant Chargé de Prévention (deux journées, 2009)

Formation Reflexives<sup>®</sup> Seminar-Linguistic and Practices of Research, 5-8 décembre 2006 à Copenhague (doctorat M. Cregut)

## **1.4- Autres**

Appartenance à des sociétés savantes :

Membre de la SF2E (Société Française d'Ecologie et d'Evolution) depuis 2017

Adhérente à l'AFA (Association Française d'Agronomie) depuis 2017

Adhérente à l'AFEM (Association Francophone d'Ecologie Microbienne) depuis sa création

## **2- Activités d'enseignement**

### **2.1- Participation à l'enseignement de l'établissement (ENSAIA)**

#### *2.1.1- L'enseignement à l'ENSAIA*

L'ENSAIA a été créée le 23 décembre 1970 par la fusion de l'Ecole de Brasserie, l'Ecole de Laiterie et l'Ecole d'Agronomie, elles-mêmes créées aux alentours du début du XX<sup>ème</sup> siècle. De 1971 à 2011, l'école a alors été une des 7 écoles de l'Institut National Polytechnique de Lorraine (INPL). Depuis 2012, l'école est une composante de l'Université de Lorraine, intégrée dans le Collégium Lorraine-INP qui réunit aujourd'hui les 11 écoles d'ingénieurs de l'Université.

L'ENSAIA délivre depuis sa création deux diplômes d'ingénieurs accrédités par la CTI dans les domaines de l'agronomie, des industries alimentaires et, par extension, de l'environnement et des biotechnologies.

Le programme est réparti en 6 semestres et la formation est composée de trois phases (*Figure 1*) :

- Phase 1 (S5) qui correspond à un semestre de formation commune avant le choix de la filière,
- Phase 2 (S6, S7 et S8) qui correspond à 2,5 semestres de formation en filière IA ou Agronomie,
- Phase 3 (S8, S9 et S10) qui correspond à 2,5 semestres de formation en spécialisation. Ces spécialisations sont actuellement au nombre de 11 et permettent d'apporter des compétences spécifiques dans les 3 grands domaines<sup>1</sup> inhérents aux métiers visés (*Figure 2*).

---

<sup>1</sup> Les trois grands domaines sont (i) Agronomie, environnement, territoires, (ii) Bioprocédés et biomolécules, (iii) Aliment : conception et fonctionnalités).

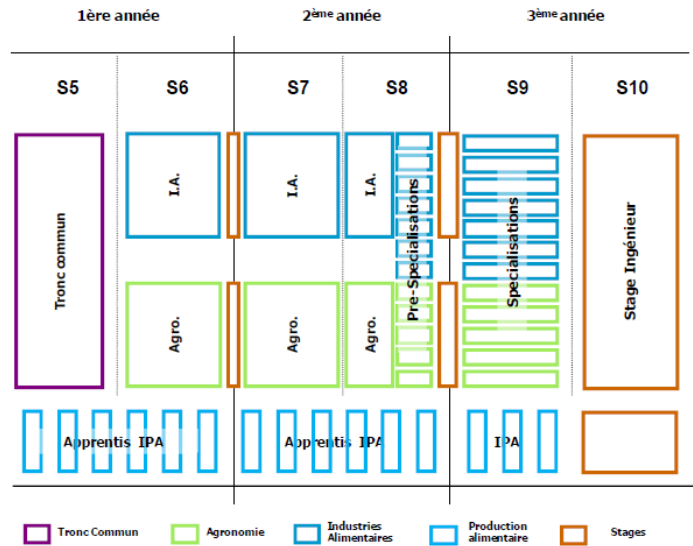


Figure 1 : Programme de formation de l'ENSAIA

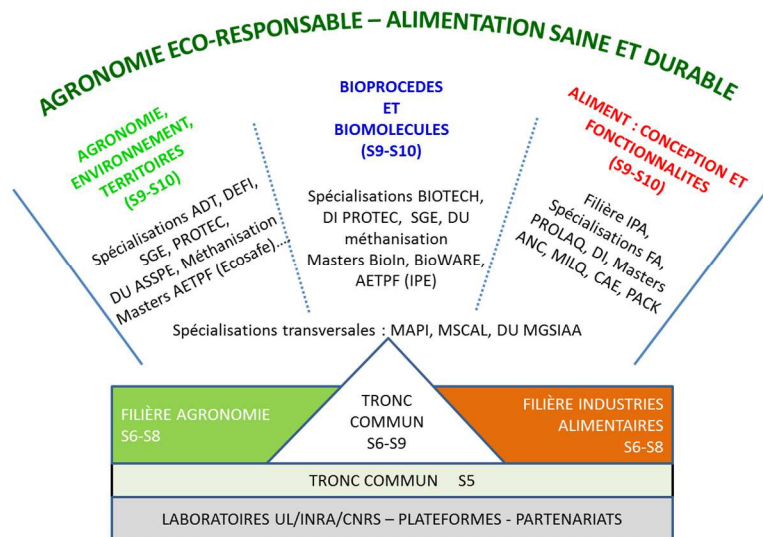


Figure 2 : Les 3 grands domaines de la formation ENSAIA et les spécialisations associées.

### 2.1.2- Services d'enseignement, réalisé pédagogique

Lors de mon intégration comme maître de conférences à l'ENSAIA, j'ai été affectée au **service de Sciences végétales dont j'assume la responsabilité depuis janvier 2020**. C'est dans ce service d'enseignement que se sont inscrits mes enseignements depuis lors. Mes interventions sont essentiellement réalisées au sein des trois années de formation des élèves ingénieurs de l'ENSAIA (du S6 au S10). Depuis mon recrutement, j'interviens plus spécifiquement sur les aspects relevant de **l'Ecophysiologie végétale** en S6 et S7 (production primaire, croissance et développement des Poacées, flux d'eau dans la plante, nutrition minérale) et de **l'Agronomie** (analyse de la cohérence des systèmes de production végétale, intégration des cultures à vocation énergétique et des plantes de service dans les systèmes de culture) (du S7 au S10) mais aussi dans le cadre de différents **projets transversaux** du S5 au S7 (Module Enjeux de l'agriculture, Projets recherche et développement (R&D), Projets Pro, Analyse de l'Entreprise Agricole). J'assume depuis 12 ans une charge moyenne d'enseignement de 243h équivalent TD/an (Tableau 1).

Tableau 1 : Récapitulatif des heures d'enseignement effectuées sur la période 2007-2019

Année universitaire	Nombre d'heures eq TD
2007-2008	234
2008-2009	233*
2009-2010	269
2010-2011	253
2011-2012	250
2012-2013	276
2013-2014	96**
2014-2015	292
2015-2016	239
2016-2017	289
2017-2018	249
2018-2019	237

Sur les 12 dernières années, la charge moyenne annuelle est de 243 heures équivalent TD.

\* Congé maternité

\*\* CRCT de 6 mois sur la période

Mes enseignements sont essentiellement destinés aux étudiants de la filière Agronomie (exception faite du module Enjeux de l'agriculture en début de S5 et des projets R&D et des projets pro en S5 et S6). Ils se répartissent de la façon suivante, en moyenne sur les dernières années : 53% d'enseignement en face à face (CM, TD, TP), 25% d'enseignement sous forme de projets (en pré-spécialisation, fin du S8 et spécialisation en S9) et 16% de tutorats de stage (évaluation des stages ouvriers en S8 et de fin d'études en S10) (Figure 3).

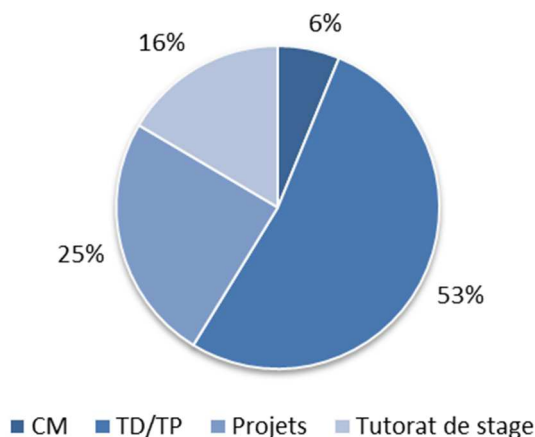


Figure 3 : Répartition de mes enseignements sur l'ensemble de la formation

**Je fais partie de l'équipe enseignante impliquée dans la pré-spécialisation et spécialisation DEFI (Développement durable des Filières agricoles) en S8 et S9.** La spécialisation DEFI accueille chaque année entre 15 et 20 étudiants présentant des profils d'intérêt assez diversifiés en lien avec les filières animales, végétales et énergie. Du fait de la forte orientation de mes enseignements sur les aspects relevant du végétal, mes interventions dans cette spécialisation concernent plus particulièrement l'étude des filières végétales à vocation alimentaire ou énergétique et la recherche d'innovations dans les systèmes de culture via l'intégration de la biodiversité et/ou de leviers agronomiques en substitution partielle aux intrants de synthèse. **De manière générale, mon implication en 3A correspond environ à 30 à 50% de mon service d'enseignement.**

Sur la période 2005-2018, je suis intervenue également dans la formation du Master FAGE (Forêt, Agronomie, Génie de l'environnement) dans des unités d'enseignement (UE) ayant trait à l'écologie des communautés microbiennes et à leurs fonctions dans les agrosystèmes. Les enseignements réalisés dans ces UE de Master étaient en adéquation avec les thématiques que je développe en recherche. La mise en place d'un parcours agro-écologie dans ce Master m'a notamment permis sur la période 2013-2018 de pouvoir développer des réflexions avec les étudiants sur la gestion des ressources et leur éco-efficacité dans les modèles agricoles orientés vers l'intensification écologique.

### 2.1.3- Démarches pédagogiques, responsabilités assumées

J'expose ci-dessous les objectifs et méthodes pédagogiques relatives aux modules que je coordonne actuellement ou que j'ai coordonnés par le passé (*Tableau 2*) et dans lesquels je suis largement impliquée (*Tableau 3*).

*Tableau 2 : Liste des modules dont j'ai assumé la responsabilité depuis 2003*

<b>Intitulé du module</b>	<b>Période</b>	<b>Intitulé de formation</b>
<b>Irrigation et drainage</b>	2002-2003	2 <sup>ème</sup> année ENSAIA Agronomie
<b>Biologie intégrative du fonctionnement de la rhizosphère</b>	2009-2013	M2 FAGE, parcours BIA
<b>Gestion des ressources en agro-écologie</b>	2013-2018	M2 FAGE, parcours agroécologie
<b>Ecophysiologie des plantes cultivées</b>	2003-	1 <sup>ère</sup> année ENSAIA Agronomie
<b>Pollutions d'origine agricole</b>	2010-	3 <sup>ème</sup> année ENSAIA Agronomie, spécialisation DEFI

*Tableau 3 : Liste des modules dans lesquels j'interviens depuis 2003*

<b>Intitulé du module</b>	<b>Code module</b>	<b>Nombre d'heures</b>	<b>Intitulé de formation</b>
<b>Initiation aux Ateliers de la Production Agricole</b>	IAPA	6h TP	1 <sup>ère</sup> année ENSAIA Tronc commun
<b>Projet Pro et Projet R et D</b>		18h TD et 1,5h TD	1 <sup>ère</sup> année ENSAIA Tronc commun
<b>Analyse de l'exploitation agricole</b>	AEA	6h TD, 12h TD	1 <sup>ère</sup> année ENSAIA Agronomie
<b>Systèmes de production végétale I</b>	SPVI	18h TD, 12h TP	1 <sup>ère</sup> année ENSAIA Agronomie
<b>Ecophysiologie des plantes cultivées</b>	EcoV	2h CM, 18h TD, 12h TP	1 <sup>ère</sup> année ENSAIA Agronomie
<b>Fertilité des sols et nutrition des plantes</b>	Fertil	2h CM, 6h TD	1 <sup>ère</sup> année ENSAIA Agronomie
<b>Systèmes de production végétale II</b>	SPVII	4h CM, 6h TD	2 <sup>ème</sup> année ENSAIA Agronomie
<b>Eau dans les agrosystèmes</b>	EA	16h TD	2 <sup>ème</sup> année ENSAIA Agronomie
<b>Agriculture et énergie</b>	AE	2h CM, 10h TD	2 <sup>ème</sup> année ENSAIA Agronomie

- Première année S5, Tronc commun  
Initiation aux Ateliers de Production Agricole



Chaque année en septembre, l'ensemble des étudiants intégrant l'ENSAIA en 1<sup>ère</sup> année passe une journée sur la ferme expérimentale de la Bouzule afin d'être sensibilisés aux enjeux de la filière agroalimentaire et à son impact sur les systèmes de production agricole au travers de 4 ateliers proposés respectivement autour des productions animales, de l'énergie-méthanisation, des productions végétales, du fonctionnement des sols. **Sur la partie relevant des systèmes de production végétale, l'atelier est consacré à la transition agro-écologique des systèmes de culture en s'appuyant sur la visite des essais systèmes de culture mis en place pour mis en place dans le cadre de projets de recherche et développement** (essai réseau EXPE Ecophyto Lorrain entre 2011 et 2017, plate-forme TCR/agroforesterie depuis 2014).

#### **Projet Pro (ex projet filière) et projet R&D**

Lors de mon recrutement en 2003, les étudiants travaillaient entre octobre et mai sur une problématique relevant de l'étude d'une filière. Depuis 2010, le projet filière a été remplacé par le **projet pro qui a pour objectif de faire travailler sur 6 mois des étudiants en groupes sur une question émanant d'un secteur socioéconomique en lien avec les industries alimentaires, l'agriculture ou l'environnement**. Ces projets encadrés par un ou plusieurs enseignant(s)-chercheur(s) tuteur(s) sont l'opportunité d'une initiation à des outils et à des méthodologies de gestion de projet (veille scientifique et technique, Nouvelles Technologies d'Information et de Communication...). La réussite de ces projets est conditionnée par des réunions de travail régulières avec les encadrants, une interaction avec les commanditaires extérieurs, des visites en lien avec la problématique, une gestion optimale du travail de groupe, une restitution du travail sous différents supports de communication (articles en anglais, posters, rapports écrit et présentation orale).

**Les projets R&D mis en place à l'ENSAIA depuis 2017 ont pour objectif d'initier les étudiants aux activités de recherche et de développement**. Ces projets sont organisés en groupes d'environ 4-5 personnes sur une thématique de recherche émanant des unités de recherche de l'ENSAIA. Le groupe doit réaliser une étude bibliographique sur le sujet en utilisant divers outils d'information et de communication et aboutir à deux livrables, une synthèse bibliographique de 4 pages et une vidéo de 3 minutes.

*Les tableaux 4 et 5 reprennent l'ensemble des projets pro et R&D que j'ai encadrés respectivement depuis 2010 et 2017.*

*Tableau 4 : Listes des projets pro encadrés sur la période 2010-2020*

<b>Intitulé du projet pro</b>	<b>Année</b>	<b>Partenaires</b>
<b>Les micro-algues : une usine photosynthétique pour le recyclage du CO<sub>2</sub> et la production de biocarburants?</b>	2010	AGRIA Lorraine, Conseil de Pays du Val de Lorraine
<b>Mise en place d'un sentier pédagogique à la Bouzule</b>	2012	Ferme expérimentale de la Bouzule, CPIE Champenoux
<b>La production du houblon en hydroponie</b>	2017	Brasseurs de France
<b>La multivalorisat ion du houblon</b>	2018	Ferme expérimentale de la Bouzule
<b>Production de Houblon en microbrasserie, techniques, agronomie, variété : quelles combinaisons pour un houblon de qualité ?</b>	2019	Brasserie La Tumulte, Hop Research institute (Tchéquie)
<b>Etudier le potentiel de développement de circuits courts en maraichage bio dans une zone périurbaine et proposer des pistes</b>	2020	Ferme du Château de Pfastatt

Les travaux initiés dans le cadre de ces projets pro peuvent aussi être le point de départ de nouveaux projets de recherche. Ainsi, le houblon est une des plantes modèles du projet de recherche 3BR financé par la Région Grand Est sur la période 2020-2022. Dans ce projet, l'UMR LAE à laquelle j'appartiens est



impliquée dans la collecte et la multiplication en aéroponie de houblon sauvage, du fait du savoir-faire acquis et des réseaux constitués dans le cadre des projets pro d'étudiants depuis 2017.

Tableau 5 : Listes des projets pro encadrés sur la période 2010-2020

Intitulé du projet R&D	Année	Projets de recherche support
Impact de l'allongement de la rotation sur la réduction de l'utilisation de produits phytosanitaires	2017	Réseau EXPE Ecophyto Lorrain (Ministère)
Le digestat au service de la fertilité biologique des sols	2018	Perséphone (Interreg)
Quels effets des systèmes agroforestiers sur le fonctionnement biologique des sols ?	2019	PotA-GE (Ademe)

- **Première année S6, filière agronomie**

- ✓ Analyse de l'exploitation agricole

Ce module permet de fournir aux étudiants les outils méthodologiques pour analyser le fonctionnement des entreprises agricoles en vue de leur stage ouvrier en entreprise agricole de 1<sup>ère</sup> année. J'interviens chaque année dans ce module depuis ma prise de fonction en septembre 2003 sur l'étude d'un cas concret (i.e. analyse du fonctionnement d'une entreprise agricole lorraine) qui se déroule sur deux semaines en mars avec un sous-groupe d'une douzaine d'étudiants co-encadrés par un binôme d'enseignants chercheurs présentant des complémentarités disciplinaires (sciences végétales, animales et sciences du sol) ainsi que sur la correction des rapports de stage en exploitation agricole. **Cette étude de cas se base sur la visite d'une entreprise agricole suivie de la réalisation d'un schéma de fonctionnement et d'une analyse technique, économique et financière du système d'exploitation.** A l'issue de 4 demi-journées de travail, les étudiants restituent leur analyse sous forme d'une présentation orale devant l'exploitant agricole suivie d'une discussion autour des points forts et des faiblesses et des pistes d'amélioration envisageables.

- ✓ Ecophysiologie Végétale

**Je suis responsable de ce module Ecophysiologie Végétale depuis ma prise de fonction en septembre 2003.** Sur la période 2003-2012, j'ai assuré seule la totalité des enseignements du module (6h CM, 30h TD, 24h TP) qui a pour objectif (i) de décrire et analyser la réponse des plantes aux conditions environnementales et (ii) de comprendre les mécanismes physiologiques sous-jacents.

Le module se décline en deux parties :

- Analyse de la production primaire des peuplements végétaux avec des rappels de physiologie concernant la régulation de la photosynthèse,
- Impact des facteurs environnementaux et des pratiques culturales sur le cycle de développement (identification des stades et des étapes clés) et la croissance des Poacées annuelles et pérennes. J'assure depuis 2013 les enseignements relatifs à cette seconde partie (2h CM, 18h TD, 12h TP).

L'ensemble de enseignements dispensés dans ce module doivent permettre aux étudiants d'aborder les approches intégratives (de la plante isolée à l'écosystème en abordant le couplage des cycles du carbone et de l'azote sous l'effet de l'environnement) et de maîtriser les critères écophysiologiques essentiels pour le choix et la conduite des Poacées dans les systèmes de culture et fourragers (prérequis pour les modules SPVI, SPVII, GSF et Agriculture et Energie).

- ✓ Système de production végétale I

Depuis ma prise de fonction en septembre 2003, j'interviens dans ce module qui vise à comprendre les grands enjeux liés aux productions végétales et à connaître les concepts de base de l'agronomie en les illustrant sur la culture du blé. Ce module permet notamment de préparer les étudiants à l'analyse de cohérence des systèmes de production végétale qu'ils doivent réaliser dans le rapport d'analyse de l'exploitation agricole consécutif à leur stage ouvrier de 1<sup>ère</sup> année. J'interviens plus particulièrement

sous forme de TD sur les aspects relevant du pilotage de la fertilisation azotée et des outils d'aide à la décision disponibles. Je suis chargée des TP visant à évaluer sur le terrain les composantes du rendement et le statut azoté des céréales en utilisant des outils d'aide à la décision. **L'analyse de la cohérence des systèmes de culture est abordée sous la forme de 2 séances de TD pendant lesquelles les étudiants travaillent sur des données d'itinéraires techniques de différentes exploitations agricoles avec des orientations technico-économiques contrastées.** A l'issue des deux séances, les étudiants restituent leur travail sous forme d'un poster décrivant les systèmes de cultures présents sur les exploitations étudiées et analysant la pertinence agronomique de la rotation et des règles de décision des différentes interventions en lien avec les éléments internes et externes des systèmes d'exploitation (Figure 4). **Ce travail permet ainsi d'initier les étudiants dès la fin de la 1<sup>ère</sup> année à l'analyse systémique.**



Figure 4 : Exemple de poster réalisé par les étudiants dans le cadre du TD d'analyse de cohérence des systèmes de culture

✓ Fertilité des sols et nutrition des plantes

Entre 2003 et 2019, j'ai assuré dans cette UE les éléments relatifs à l'assimilation des éléments nutritifs des plantes cultivées avec un focus sur l'azote en CM et des sujets d'exposés traités par les étudiants en TD sur les couples d'exigences plante-éléments minéraux (i.e. colza-soufre ou blé-cuivre par exemple). Depuis 2019, afin d'assurer une meilleure cohérence, l'assimilation de l'azote est traitée dans le module d'écophysiologie végétale notamment en lien avec les stratégies écologiques d'efficacité d'utilisation de l'azote chez les Poacées. **J'ai ainsi réorienté mes enseignements dans ce module sur des aspects relevant de mes activités de recherche en lien avec l'effet des pratiques agricoles sur la fertilité des sols dans des systèmes de culture présentant des trajectoires contrastées (polyculture élevage vs céréalières, systèmes agroforestiers, agriculture de conservation des sols...).**

• Deuxième année S7, filière agronomie

✓ Agriculture et Energie

Ce module qui vise à comprendre les grands enjeux énergétiques et la place de l'agriculture, en tant que productrice et consommatrice d'énergie est en place depuis 2014. **Au sein de ce dernier, j'interviens particulièrement sur les enjeux économiques, agronomiques, environnementaux et socio-territoriaux relevant de l'intégration de cultures énergétiques annuelles ou pluri-annuelles dans les systèmes de cultures.**

✓ Système de production végétale II

Dans la continuité des enseignements de systèmes de production végétale de 1<sup>ère</sup> année, ce module permet de conforter les bases de l'analyse systémique en renforçant les connaissances sur la diversité des systèmes de cultures. Ainsi, les étudiants ont des interventions sur différentes filières non abordées en 1<sup>ère</sup> année (oléagineux, pomme de terre, orge brassicole, arboriculture...). J'interviens notamment en CM sur l'intégration de l'orge brassicole comme élément de diversification des rotations et sur les bénéfices des plantes de services en association et/ou interculture sur la durabilité des systèmes de cultures dans le contexte de réduction des intrants et de protection des ressources naturelles. **J'assure dans la continuité de la 1<sup>ère</sup> année, un TD de soutien à l'analyse de cohérence des systèmes de production végétale présents sur les exploitations agricoles dans lesquelles les étudiants ont fait leur stage ouvrier.** L'évaluation de cette analyse est réalisée dans le cadre du rapport d'analyse de l'exploitation agricole.

✓ Eau dans les agrosystèmes

Ce module vise à caractériser les différents états de l'eau et les flux dans le continuum sol-plante-atmosphère et à appliquer ses connaissances dans un second temps à la gestion de l'eau dans les agrosystèmes au travers de la notion de bilan hydrique et de l'efficacité de l'utilisation de l'eau en irrigation. Après avoir assuré entre 2003 et 2012, l'ensemble des enseignements relatifs à la composante végétale de ce module (bases du fonctionnement hydrique des plantes, stratégies d'adaptation, irrigation), **je suis actuellement en charge de la seconde partie de l'UE relevant de l'application des connaissances à la gestion de l'eau dans les agrosystèmes. J'aborde ainsi avec les étudiants les indicateurs existants ou en cours de développement de l'état hydrique du végétal (potentiel hydrique foliaire, micro-variations de diamètre, flux de sève...).** Dans ce cadre, les étudiants doivent formaliser pour chacun des indicateurs, sous forme de plaquettes ou de posters selon les années, un argumentaire reprenant le principe de la mesure, la description de l'outil de mesure, la validation scientifique de la mesure avec les valeurs seuils de l'indicateur, les avantages/inconvénients notamment pour le pilotage de l'irrigation ainsi que le témoignage d'un utilisateur (*Figure 5*). Ces indicateurs de l'état hydrique sont ensuite repris dans un TD consacré au pilotage de l'irrigation dans les systèmes de production végétale autour de trois questions, « quand arroser, quelle dose prévoir, comment l'apporter », auxquelles il faut pouvoir répondre avec une précision maximale pour garantir un potentiel de production quantitatif et qualitatif à moindre coût en évitant tout apport d'eau inutile, voire délétère pour les écosystèmes.

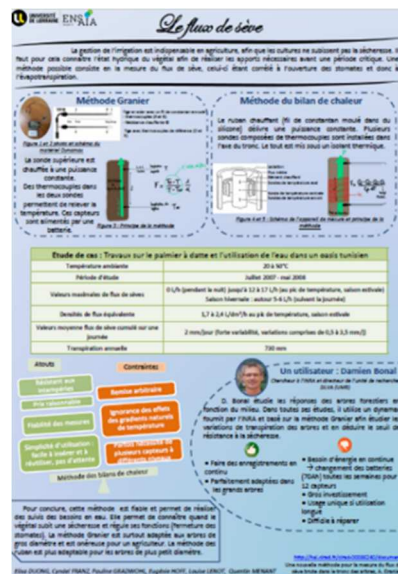


Figure 5 : Exemple de poster réalisé par les étudiants dans le cadre du TD sur les indicateurs de l'état hydrique des végétaux

- **Deuxième année S8, filière agronomie, pré-spécialisation DEFI**

- ✓ Outils d'aide à la décision en productions végétales

Pour répondre aux nouveaux enjeux techniques, économiques et environnementaux des systèmes de culture, les exploitations agricoles sont confrontées à des choix de plus en plus complexes. Pour maîtriser ces choix, la prise de décision par l'agriculteur nécessite souvent la mise en œuvre d'outils d'aide à la décision. **Chaque année, en pré-spécialisation, une partie des étudiants va ainsi répondre, sous forme d'un projet de 25h, à une problématique si possible posée par un commanditaire.** Le *tableau 6* reprend les problématiques que j'ai pu proposer depuis 2010 sachant que selon les années, les propositions émanent d'enseignants-chercheurs différents.

*Tableau 6 : Projets proposés dans le cadre du module "Outils d'aide à la décision en productions végétales" depuis 2010*

<b>Intitulé du projet</b>	<b>Année</b>	<b>Livrables</b>	<b>Partenaires</b>
<b>Quelle couverture de sol en interculture entre deux maïs ensilage?</b>	2010	Essai expérimental intégré dans la synthèse régionale sur les couverts de la CRAL	Jouffray-Drillaud, Ferme expérimentale de la Bouzule, Chambre Régionale d'Agriculture de Lorraine (CRAL)
<b>Quels leviers agronomiques pour la gestion des adventices sur la ferme expérimentale de la Bouzule ?</b>	2011	Rapport s'appuyant sur des recherches bibliographiques et des visites d'essais	Ferme expérimentale de la Bouzule, réseau EXPE Ecophyto Lorrain
<b>Lutte alternative pour l'entretien des greens sujets aux maladies cryptogamiques et aux attaques de mousses</b>	2013	Essai expérimental sur le golf de Vittel, traitement et notations de Dollar spot	Koppert, Technickgreen
<b>Etat des lieux et réflexions sur l'utilisation du glyphosate en Lorraine</b>	2015	Enquêtes auprès d'agriculteurs et réalisation de monographies	Arvalis Lorraine
<b>Les potentialités de l'agriculture de précision : réseau BeApi en Lorraine</b>	2018	Traitement d'une base de données spatialisée, calcul de dose d'engrais en modulation intraparcellaire et soutenance orale	Coopérative EMC2
<b>Quels scénarios pour assurer la transition agroécologique de la ferme expérimentale de la Bouzule ?</b>	2019	Etablissement de scénarios et évaluation, soutenance orale	Ferme expérimentale de la Bouzule, comité de pilotage Bouzule

- **Troisième année S9, filière agronomie, spécialisation DEFI**

- ✓ Pollutions d'Origine Agricole

**Depuis 2010, je suis responsable de ce module (25h présentiel pour les étudiants) qui se déroule chaque année en spécialisation DEFI.** Ce module qui se base sur des interventions de différents acteurs des filières agricoles a pour objectifs, (i) de faire un état des lieux des différents types de pollution (diffuses, chroniques) et les compartiments concernés (eau, sol, air) et (ii) de proposer des solutions permettant de diminuer ces pollutions.

**J'interviens aussi dans deux types de projets, expérimentaux (15h équivalent TD / projet) et thématiques (25h équivalent TD / projet), qui sont fortement en lien avec les enjeux actuels de la transition agroécologique (Tableau 7).** Je n'interviens pas systématiquement dans les deux types de

projets chaque année du fait d'une répartition concertée des projets entre les six enseignants-chercheurs impliqués dans la spécialisation.

Tableau 7 : Sujets proposés dans le cadre des projets expérimentaux et thématiques depuis 2010.

Année	Projets expérimentaux	Projets thématiques
2010	Etude de l'influence de la réduction de la densité de semis de triticale sur la compétition entre la céréale et deux adventices, le laiteron et le vulpin.	∅
2011	Impact de différents couverts végétaux semés sous maïs sur la qualité biologique du sol.	Mise en place d'un système agro-innovant à la Bouzule
2012	∅	DEPHY écophyto : mise en place de pratiques innovantes dans l'objectif de réduction de 50% de la pression phytosanitaire
2013	Effet du précédent cultural sur la densité et la diversité de la communauté d'adventices	Atouts et spécificités de l'AB et adaptabilité aux systèmes de culture conventionnels
2014	Analyse de la composition en adventices de cultures dont les ITK s'insèrent dans la démarche Ecophyto 2018	∅
2015	Etude de l'efficacité de <i>Trichoderma harzianum</i> pour le contrôle du Dollar Spot ( <i>Sclerotinia homoeocarpa</i> ), maladie des gazons	∅
2016	Quel est l'effet d'un allongement de la rotation sur les pressions d'adventices et de limaces ?  Effet biostimulant du purin d'ortie sur une culture majeure, le blé tendre ( <i>Triticum aestivum</i> L.)	Les plantes de service
2017	Effet de l'allongement de la rotation sur l'abondance et la diversité des communautés d'adventices	∅
2018	Impacts d'un système de culture intégré sur la diversité et la pression en adventices	Évaluer les potentialités de l'agroforesterie dans le Grand-Est de la France
2019	∅	Le relay-cropping, une technique de culture d'avenir ?
2020	L'allongement des rotations via des cultures de printemps a-t-il un effet sur la pression adventice et leur diversité (projet Ecophyto II EXPEGE)	Diversité du houblon à l'état sauvage en Lorraine

Enfin, je suis amenée selon les années à participer au projet Territoire qui correspond à une demande formulée par un commanditaire sur des problématiques en lien avec l'intégration des filières et de leurs acteurs sur un territoire. Ce projet implique deux spécialisations de 3A, DEFI et ADT (Agricultures et Développement des Territoires) et se déroule sur la période de janvier à février en deux étapes, (i) une étape préparatoire correspondant à l'appréhension du territoire *via* des outils de cartographies, de bibliographies, de contacts d'acteurs du territoires et des enquêtes téléphoniques, (ii) une semaine



de travail sur le territoire pour échanger avec différents acteurs (visites, enquêtes, focus groupes...) et construire un argumentaire et des propositions en réponse à la demande du commanditaire. Ainsi en 2020, ce projet a eu lieu sur le territoire ardéchois sur la problématique du passage de la marque Agneau d'Ardèche à un sigle de qualité de type IGP.

#### 2.1.4- Des enseignement intégrés dans une problématique Recherche, développement et innovation

Les enseignements que je réalise à l'ENSAIA doivent permettre aux étudiants d'acquérir les compétences pour occuper notamment à l'issue de la spécialisation DEFI des postes d'ingénieur R&D dans le secteur de l'agronomie et d'ingénieur/animateur énergie-agronomie-environnement dans les filières agricoles. **Pour assurer une adéquation la plus proche possible entre les enseignements dispensés et les attentes des futurs employeurs, les enseignements dispensés sous forme de projets pédagogiques s'intègrent soit dans des projets de R&D dans lesquels je suis intégrée ou répondent à des demandes de commanditaires du monde socio-professionnel.** Sur les dix dernières années, différents projets ou essais expérimentaux ont servi de support à mes enseignements tant sous la forme de projets que de sorties sous forme de TP (Figure 6) :

- Plateforme Bouzule du réseau DEPHY EXPE<sup>2</sup> Lorrain Ecophyto I Grandes cultures (période 2011-2018),
- Parcelle d'essai allongement de rotation avec introduction de pois de printemps et de bandes fleuries entre les cultures (période 2008-2013),
- Essai TCR<sup>3</sup>-agroforesterie (depuis 2014),
- Essai micro-parcelles sur prairies avec modalités de fertilisation organique (dont digestats de méthanisation) et minérale (depuis 2017).

Ainsi l'essai R&D réseau EXPE Ecophyto lorrain Grandes cultures mis en place sur la période 2011-2018 en lien avec la problématique de réduction de la pression phytosanitaire a permis d'initier les étudiants, dès la 1<sup>ère</sup> année dans le cadre des projets R&D, aux tenants et aboutissants du programme Ecophytol. Il a aussi servi de support de projets expérimentaux autour des effets de l'allongement de la rotation sur la structure des communautés d'adventices pour plusieurs groupes d'étudiants de 3<sup>ème</sup> année spécialisation DEFI.

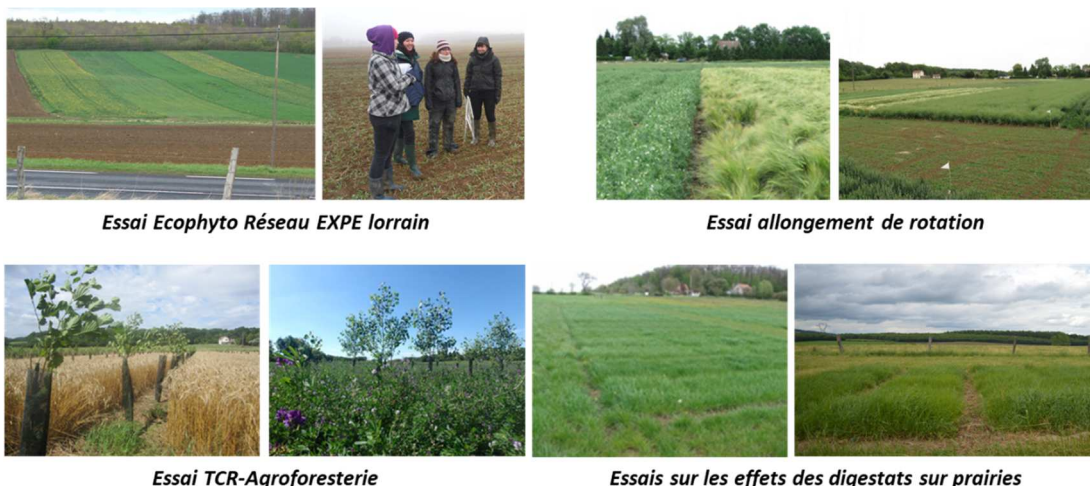


Figure 6 : Des essais R&D comme support de projets et de travaux pratiques

<sup>2</sup> Réseau d'expérimentations de pratiques et systèmes de cultures économes en pesticides

<sup>3</sup> Taillis Courte Rotation

### 2.1.5- Encadrement d'étudiants pour l'enseignement (hors activités de recherche)

**Je participe aussi au tutorat des étudiants de spécialisation lors de leur stage de fin d'études (24 semaines).** Ce tutorat correspond selon l'effectif de la spécialisation à 3 ou 4 étudiants chaque année (5h équivalent TD/tutorat). Depuis 2018, j'interviens plus ponctuellement dans la nouvelle maquette du Master AETPF (Agrosciences, Environnement, Territoires, Paysage, Forêt), notamment sous la forme de tutorats de stage dans le parcours ECOSAFE (Ecosystèmes Agricoles et Forestiers) relevant de problématiques agriculture-environnement.

### 2.2- Création de documents pédagogiques et publications d'enseignement

L'université de Lorraine dispose d'une plateforme (ARCHE) dédiée notamment à la mise en ligne des supports d'enseignement. **Pour les enseignements dispensés entre le S6 et le S8, tous les diaporamas relatifs à mes enseignements sont déposés sur la plateforme de façon à ce que les étudiants puissent compléter leurs notes prises en présentiel. Ces supports sont dans la majorité des cas accompagnés de documents complémentaires (publications scientifiques, documents du cours à travailler en autonomie, articles de presse agricole...) que les étudiants doivent travailler en non-présentiel et dont les contenus sont intégrés à l'examen terminal des différentes UE.**

La rédaction de publications d'enseignement reste très anecdotique du fait d'un manque de temps notamment. La seule valorisation en lien avec un projet territoire réalisé en 2005 et publiée en 2008 est mentionnée ci-dessous.

Benoit, M., Crépineau, C., Feidt, C., Amiaud, B., Le Roux, Y., Piutti, S., & Jurjanz, S. (2008). When students faced rural realities: Learning complexity in a rural region. In *Proceedings of the 8th European IFSA Symposium* (pp. 1011-1016).

### 2.3- Formation continue ou professionnelle

**2006-2007 et 2013-2016** : Formation sur les agroécosystèmes (INFOMA, TSMA stagiaires 2<sup>ème</sup> grade, spécialité : Forêts et Territoires Ruraux 2 jours/an, public : techniciens)

**2007-2009** : Formation sur la dissipation des produits phytosanitaires dans les sols agricoles (CFPPA Obernai, 3h/an, public : techniciens).

**2010** : Formation Résolia (APCA) sur les critères de reconnaissance et éléments de biologie des mauvaises herbes (Chambre Régionale d'Agriculture de Lorraine, 3h, public techniciens).

**2014** : Formation sur la dégradabilité des matières actives (Chambre d'Agriculture de Côte d'Or, 2 jours, public : techniciens, agriculteurs).

**2015** : Formation Résolia (APCA) sur le fonctionnement biologique des sols agricoles (Koppert, 2 journées Nantes et Cavaillon, public : techniciens et ingénieurs).

**En résumé :**

Mes activités d'enseignement concernent essentiellement les sciences végétales avec des déclinaisons plus théoriques (écophysiologie végétale) qui servent de bases pour aborder les enjeux plus appliqués de la recherche et de l'intégration d'innovations dans la conduite des systèmes de production végétale.

Ces enseignements sont dispensés sous différentes formes, notamment cours magistraux, travaux dirigés, sorties et travaux pratiques en 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> année puis essentiellement sous forme de projets d'initiation en 1<sup>ère</sup> année et d'approfondissement à mesure que les étudiants se spécialisent dans leur formation (pré-spécialisation et spécialisation DEFI). L'ensemble de la démarche pédagogique peut être visualisé sur le schéma global présenté sur la figure 7.

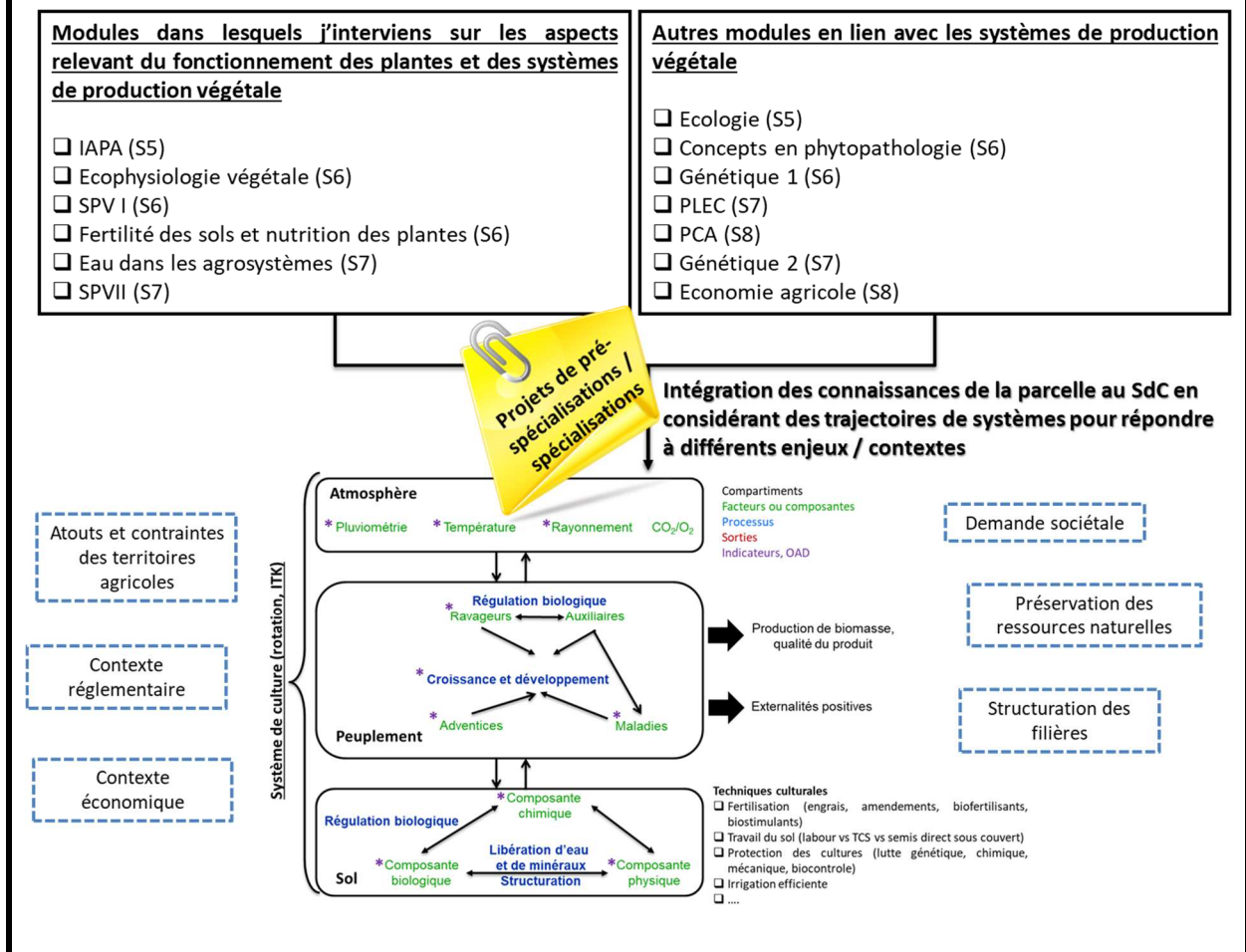


Figure 7 : Démarche pédagogique mise en œuvre pour permettre une intégration efficace des connaissances du peuplement végétal au système de culture.

**2.4- Conclusion et perspectives**

Lors de mon arrivée à l'ENSAIA en tant qu'ATER en 2001, les seules compétences en agronomie que j'avais, reposaient sur ma formation initiale de DUT et sur les aspects relatifs aux produits phytosanitaires acquis lors de mon doctorat. Ces 20 dernières années m'ont permis grâce à une immersion dans un collectif pluridisciplinaire et dynamique d'enseignants - chercheurs de progresser et de m'épanouir dans mes missions d'enseignement tant dans le domaine de l'écophysiologie végétale que de l'agronomie. Du fait de ma proximité forte avec le monde agricole, j'ai toujours à cœur de dispenser un enseignement appliqué, reposant sur des concepts théoriques permettant de comprendre les intérêts et limites de la mobilisation des leviers agronomiques en réponse aux



évolutions de contexte économique, réglementaire et sociétal qui s'imposent aux acteurs de terrain. Si j'ai toujours un intérêt pour les enseignements d'écophysiologie végétale qui font partie des bases pour la formation d'ingénieur agronome, j'aimerais dans les années à venir m'investir plus sur les aspects relevant de la transition agroécologique des systèmes agricoles en intégrant de façon plus forte les enseignements d'écophysiologie végétale dans les approches systémiques.

Suite à la dernière évaluation de la Commission des Titres de l'Ingénieur (CTI), la direction de l'ENSAIA a initié dès le début de l'année 2017 une réflexion approfondie sur le profil de compétences qui doit caractériser les ingénieurs diplômés de l'ENSAIA. Plusieurs groupes de travail (GT), ouverts aux enseignants-chercheurs volontaires, se sont mis en place en juillet 2019 pour définir et décliner les modules d'enseignement qui s'inscriront dans la nouvelle maquette qui doit contribuer au renforcement de l'adéquation entre la formation des ingénieurs et la réalité des entreprises des secteurs agricoles et agro-alimentaires. En tant que responsable du service d'enseignement Sciences Végétales, j'ai intégré le GT agronomie en charge de la refonte complète des enseignements du bloc agronomie sur les semestres S6, S7 et S8 hors pré-spécialisation. L'objectif majeur de ce GT est d'aboutir pour la rentrée de septembre 2021 à une structuration des enseignements d'agronomie dès le S6 sur des problématiques inhérentes aux filières végétales et animales pour éviter l'écueil actuel des enseignements tubulaires et clivés qui se sont structurés autour des trois disciplines majeures de l'agronomie à savoir les sciences du sol, du végétal et de l'animal. Cette nouvelle structuration devra ainsi d'apporter dans un premier temps en amont de chaque filière étudiée des enseignements théoriques transversaux relevant des principes généraux d'agronomie et dans un second temps de mobiliser ces concepts pour répondre à une problématique concrète spécifique de chaque filière. Mon implication dans cette réforme pédagogique des enseignements initiée à l'ENSAIA sera intensifiée sur le début d'année 2021 pour répondre aux exigences formulées par la CTI en vue du dossier que l'ENSAIA devra finaliser d'ici juin 2021.

Les discussions menées au sein du GT Agronomie ont aussi abouti au constat d'une très faible mobilisation des concepts d'agroécologie dans les enseignements au cours des semestres S6 à S8. Sachant que la maquette d'enseignement est déjà très chargée sur ces semestres, une idée pourrait être de renforcer ces aspects pour certaines pré-spécialisations et spécialisations d'agronomie au travers d'enseignements numériques et de projets transversaux mobilisant l'expertise d'enseignants et d'étudiants de différentes disciplines. En tant que responsable du service Sciences Végétales et représentante pour l'ENSAIA au sein du groupe thématique "Agroécologie" d'Agreenium, j'aimerais pouvoir développer dans les années à venir des enseignements mobilisant les concepts d'agroécologie et intégrant les différentes échelles spatio-temporelles et/ou différents niveaux d'organisation (parcelle, système de culture, l'exploitation agricole, territoire) pour répondre à différents enjeux sociétaux, environnementaux en fonction des spécificités des filières et des territoires. J'aimerais notamment engager avec différents collègues d'autres disciplines un travail de réflexion pour aboutir au développement d'un module, autour des aspects relevant de la gestion des ressources pour des systèmes d'exploitation en transition agroécologique, qui pourrait être transversal à différentes spécialisations de 3<sup>ème</sup> année. Il pourrait s'agir d'aborder à l'échelle d'un système de production les principes écologiques et actions de recherche actuelle visant à la mise en œuvre d'actions techniques ayant pour but d'intensifier les fonctions écologiques dans le but d'assurer à la fois la souveraineté alimentaire et énergétique des territoires tout en permettant une meilleure gestion des ressources. Les fonctionnalités écologiques concerneraient le peuplement végétal, la dynamique de l'eau et des éléments minéraux, la structure et fertilité des sols, la régulation des ennemis des cultures.

La création des deux chaires Biosolutions et Agrométhas hébergées à l'ENSAIA et pour lesquelles je suis partie prenante constitue une opportunité de développer d'une part plus de projets d'enseignements avec des partenaires industriels et d'autre part de contribuer à la formation continue pour laquelle j'ai peu d'actions actuellement.

### 3- Activités de recherche et de développement

#### *Préambule :*

*Les activités de recherche que j'ai pu mener jusqu'alors, à la fois au cours de mon doctorat et en tant qu'enseignant chercheur, se sont focalisées sur certaines fonctions (dégradation des herbicides et minéralisation des matières organiques du sol) assurées les micro-organismes du sol.*

*Ces fonctions ont été étudiées à différentes échelles (de l'agrégat de sol rhizosphérique à la parcelle agricole) avec différentes approches (microbiologique, moléculaire, isotopique) avec la volonté de faire le lien entre les caractéristiques taxonomiques et fonctionnelles des communautés microbiennes (abondance et diversité) et leurs activités appréhendées par des mesures d'activités enzymatiques et/ou de flux de minéralisation.*

#### 3.1- Contexte général

##### 3.1.1- Des révolutions agricoles à l'agriculture écologiquement intensive

Les premières traces de l'agriculture ont été mises en évidence il y a 9500 ans dans différents foyers de zones géographiques bien précises. Cette naissance de l'agriculture a été marquée par la domestication de quelques espèces qui encore aujourd'hui apportent la majorité des calories qui nourrissent l'humanité. Cette transition du mode chasseur cueilleur à agriculteur n'a cependant pas été forcément une amélioration de la vie au niveau individuel des *Homo sapiens*. En effet, en permettant une croissance exponentielle de l'espèce, elle a engendré rapidement une insécurité alimentaire en période d'aléas climatiques, l'apparition des premiers clivages sociaux et une première forme de dépendance économique et sociale à une faible diversité de produits agricoles. Selon certains, ce sont une poignée d'espèces, dont le blé, alors présentes à l'état sauvage parmi tant d'autres qui domestiquèrent *Homo sapiens* et non l'inverse conduisant notre espèce à la sédentarisation et à une dépendance à la culture de quelques espèces (Harari 2016). **Cette première transition reste encore empreinte de contradictions ; pour certains scientifiques, elle a ainsi constitué la voie du progrès alors que pour d'autres, elle a réduit la capacité de l'espèce à exploiter l'ensemble de la biodiversité pour ses besoins et "elle a arraché l'Homme à sa symbiose intime avec la nature".** Elle témoigne déjà de l'arrogante prétention de l'Homme à vouloir "contrôler la nature".

**Ensuite, l'essor de l'agriculture se fit très progressivement au fil des siècles et des millénaires jusqu'à la révolution agricole contemporaine située entre le 18<sup>ème</sup> et 19<sup>ème</sup> siècle.** Il s'agit alors de la mise en œuvre d'un ensemble de perfectionnements et d'innovations techniques internes et externes (amendements, déchets urbains, puis engrais industriels, instruments et machines), dans le cadre général d'une évolution de la société et de l'économie caractérisée par l'ouverture (Vanderpooten, 2001). Ainsi, à l'aube du 18<sup>ème</sup> siècle, l'agriculture avait peu évolué depuis le Moyen-Age. En France, les paysans pratiquaient l'assolement triennal, céréales d'hiver en 1<sup>ère</sup> année, puis céréales de printemps la seconde année et enfin une troisième année de jachère (souvent consacrée à l'élevage) afin de permettre un "renouvellement de la fertilité". Les parcelles étaient de faible surface et travaillées collectivement. La première révolution agricole contemporaine est associée à l'abandon de la jachère et à l'introduction d'assolements faisant alterner cultures céréalières et cultures fourragères, ces dernières permettant un accroissement du cheptel. Ce développement des troupeaux a permis d'une part, en retour, de fournir des quantités importantes de fumier, un engrais naturel à même de préserver la fertilité en l'absence de jachère, et d'autre part de disposer de forces de traction utiles. **C'est au cours de cette révolution que sont apparues les premières innovations en termes de travail du sol, d'utilisation des engrais de synthèse et de révolution fourragère.**

Depuis le début du 20<sup>ème</sup> siècle, la population mondiale a connu un essor très important qui a eu pour conséquence d'augmenter la demande en produits alimentaires. **Pour y répondre, l'agriculture a subi une mutation profonde (seconde révolution agricole ou révolution verte) se traduisant par une intensification des facteurs de production parmi lesquels la mécanisation motorisée, le recours aux intrants (produits phytosanitaires, engrais, semences) et l'irrigation.** Le rendement par unité de surface a été considérablement augmenté. Pour le blé par exemple, les rendements moyens

initialement proches de 15 quintaux à l'hectare en 1920 (soit guère plus qu'au Moyen-Age) et à peine de 20 quintaux en 1950 approchent aujourd'hui en moyenne de 70 quintaux à l'hectare, avec des rendements maximums de 110 quintaux dans certaines zones françaises. **Cette révolution agricole a ainsi permis à la France et à l'Europe d'accéder à la souveraineté alimentaire.** Cependant, le doublement de la production alimentaire mondiale sur la période 1960-2000 s'est accompagné d'une forte utilisation de fertilisants de synthèse (x7 pour les engrais azotés et x3,5 pour P) et d'une augmentation des surfaces irriguées (x2,6) (Tilman *et al.*, 2001, 2002). De façon simultanée, la motorisation à outrance a conduit à ouvrir les paysages en arrachant les haies, favorisant ainsi l'érosion. La spécialisation des systèmes de production agricole a conduit à une simplification des successions culturales avec abandon des prairies temporaires à base de légumineuses, à une augmentation des surfaces de prairies retournées et des travaux de drainage (plus de 2 millions d'ha drainés entre 1975 et 2000 à l'échelle française). **Cette transformation des territoires agricoles, qui a permis le dé plafonnement des rendements agricoles via une spécialisation des systèmes de production agricole, a profondément déstabilisé l'équilibre "homme-nature".** La prise de conscience de ce déséquilibre ne tarda pas à s'imposer notamment grâce à l'ouvrage "Silent Spring" publié en 1962 par Rachel Carson qui contribua, dans le monde entier, à une prise de conscience des enjeux écologiques liés à l'utilisation des produits phytosanitaires, notamment le DDT. Le questionnement sur la relation agriculture-environnement s'est prolongé dans les années 70-80 dans la communauté scientifique notamment de chercheurs exprimant leur scepticisme vis-à-vis des bienfaits à long terme de ce modèle agricole intensif décliné uniformément à l'échelle mondiale indépendamment des spécificités des territoires (Pinstrup-Andersen et Hazell, 1985 ; Pimentel et Pimentel, 1990 ; Pimentel, 1996). Parmi les sceptiques, Gordon Conway, auteur notamment de "The Doubly green Revolution" évoque dès le début des années 80, l'importance de considérer l'ensemble de l'agroécosystème (défini comme un ensemble de composantes liés par des relations fonctionnelles) et pas simplement les innovations techniques prises isolément pour améliorer les performances déclinées en termes de productivité, de stabilité, de durabilité et d'équité de ces systèmes. Malheureusement, cette déclinaison d'un modèle unique à grande échelle a eu des impacts, se traduisant par la dégradation des ressources naturelles (air, eau, sol, biodiversité), qui sont maintenant clairement établis. Dans le contexte de la protection des cultures, la simplification des systèmes de cultures et une utilisation non raisonnée des produits phytosanitaires a engendré une contamination des différents compartiments des écosystèmes (Flury, 1996 ; Gevaio *et al.*, 2000 ; Bedos *et al.*, 2002), une érosion de la biodiversité (McLaughlin et Mineau, 1995 ; Beketov *et al.*, 2013) et une émergence exponentielle des cas de résistances chez les bioagresseurs notamment chez les adventices (Heap, 2014).

Selon les projections démographiques, le monde comptera 9,6 milliards d'habitants en 2050 dont 31% des populations en zone rurale et 69% en zone urbaine. **Pour assurer la sécurité alimentaire de la population mondiale en 2050, des changements d'usage des sols seront nécessaires pour augmenter la surface agricole** (Prospective Agrimonde-Terra). Depuis 40 ans, à l'échelle mondiale, les terres cultivées ont augmenté de 12% ce qui correspond à un rythme annuel de 4 millions d'ha contrebalancé malheureusement par des disparitions de terres liées à l'érosion (17 % du territoire français touché par l'érosion), la salinisation et les pollutions. Entre 1980 et 2005, les terres cultivées ont progressé de 4,5% soit 10 fois moins que l'accroissement de la population mondiale sur la même période suggérant une forte tension sur l'usage des sols. Ce déséquilibre jusqu'alors compensé par une augmentation de la productivité agricole mondiale (facteur 2 entre 1960 et 2000) du fait d'une intensification des systèmes de production agricole (Tilman *et al.*, 2002) risque de s'accroître d'ici 2050. En effet, *"le pouvoir multiplicateur de la population est infiniment plus grand que le pouvoir qu'a la Terre de produire la subsistance de l'Homme"* (Malthus, 1798). Ainsi, selon la FAO, la production agricole mondiale devra augmenter en moyenne de 74% (entre 68% et 98% selon les modèles de prédiction et le type de produits agricoles) d'ici 2050. Pour y répondre, les modèles d'extension des surfaces cultivées prédisent une augmentation de l'ordre de 200 à 320 millions d'ha (essentiellement en Afrique et Moyen Orient) respectivement avec ou sans prise en compte du changement climatique (Schmitz *et al.*, 2014). La mise en œuvre de ce changement d'usage des sols dépendra notamment du contexte

économique et politique, du changement climatique et de l'évolution des régimes alimentaires et des systèmes de production agricole à l'échelle des territoires. Dans le scénario TYFA (Ten Years for Agroecology) décliné à l'échelle européenne, la transition agro-écologique est abordée comme une trajectoire d'innovations des systèmes agricoles pour maximiser l'usage des processus écologiques dans le fonctionnement des agroécosystèmes (Poux et Aubert, 2018). Dans cette vision, différentes dimensions du système agricole doivent être considérées simultanément dont l'usage des terres, la gestion de la fertilité des sols, la production végétale et animale, les usages non alimentaires de la biomasse....

**Le sol apparaît dans tous les scénarios de prospective comme un élément essentiel de l'enjeu de souveraineté alimentaire qui s'annonce à l'avenir.** Pourtant, cette ressource naturelle de plus en plus rare est soumise, ces dernières décennies, à une dégradation conséquente sans garde-fou. Si l'union européenne s'est dotée de deux directives-cadres pour préserver les biens communs que sont l'eau et l'air, elle n'a jusqu'alors pas abouti sur le projet de directive-cadre sol laissant de ce fait à chaque état membre la responsabilité individuelle de cette ressource.

### 3.1.2- La multifonctionnalité des sols

Le sol, interface entre la biosphère et la géosphère, est la couche superficielle, meuble de l'écorce terrestre. Support de l'activité biologique tellurique, il résulte de l'altération de la roche mère sous l'influence de facteurs comme le climat et l'activité biologique (microorganismes, végétaux, animaux et activités anthropiques). Le sol n'est donc pas un milieu inerte et stable, il est en constante évolution. C'est un milieu constitué de trois phases :

- **Une phase solide constituée d'une fraction organique et d'une fraction minérale dont l'arrangement ménage des pores, qui représentent 30 à 60% du volume total du sol.** La fraction minérale provient de l'altération des roches sous-jacentes sur lesquelles le sol s'est développé tandis que la fraction organique ou matières organiques des sols (MOS) correspond aux organismes vivants ainsi qu'aux résidus organiques à différents stades d'évolution. A l'échelle humaine, la fraction minérale est de composition constante pour un sol donné, alors que la fraction organique est en constante évolution qualitative et quantitative du fait du mode d'occupation du sol et des pratiques de gestion associées sous action des contraintes climatiques. Ces deux fractions réagissent pour former des associations organo-minérales fortement répandues dans les sols et essentielles pour l'expression de différentes fonctions des sols comme la dégradation des polluants ou la décomposition des MOS ;
- **Une phase liquide, la solution de sol, qui remplit les pores.** Le mouvement des fluides dans le sol sont permanents induisant des processus de transport et de transformation d'éléments inhérents aux cycles (cas de l'eau ou d'éléments minéraux). La solution du sol contient les éléments biodisponibles pour la croissance des plantes mais aussi des formes solubles de C issues de la MOS voire des composés organiques xénobiotiques susceptibles d'assurer en tant que source de carbone et d'énergie la croissance des communautés microbiennes hétérotrophes du sol, et
- **Une phase gazeuse,** essentiellement constituée d'un mélange d'azote (N), d'oxygène, de dioxyde de carbone et de vapeur d'eau.

Le sol peut être considéré comme un système holistique constitué de propriétés physiques, chimiques et biologiques et caractérisé par de nombreuses interactions entre ses différentes composantes (Karlen *et al.*, 2003). **Ce système holistique constitue une matrice parmi les plus hétérogènes de la biosphère, avec une différenciation extrêmement élevée des propriétés et des processus que l'on considère l'échelle spatiale (de l'échelle nanométrique locale à l'échelle continentale) ou l'échelle temporelle (de la seconde au millénaire).** Pour exemple, l'hétérogénéité spatiale et temporelle de l'apport de MO labiles par les plantes crée des « hots spots » microbiens présents sur de courtes périodes de temps et à des échelles spatiales micro voire nanométriques (pour revue Kuzyakov et Blagodatskaya, 2015). Ces gradients d'hétérogénéité spatio-temporelle sont importants à prendre en compte dans l'expression des propriétés et/ou fonctions qui permettent aux sols d'être à l'origine de

services écosystémiques (SE) tels que le stockage de C, la régulation des cycles de l'eau et des éléments minéraux, la régulation des bioagresseurs et la bio-épuration de polluants (Adhikari et Hartemink, 2016). L'ensemble de ces fonctions sont essentielles pour assurer la production primaire et le développement de l'ensemble des réseaux trophiques présents dans les écosystèmes. Les activités anthropiques ont généré de nombreuses dégradations des sols tant physiques que chimiques qui peuvent altérer la biodiversité, les fonctions portées par la biodiversité et la fourniture de services. **Le sol est une ressource essentielle dans un contexte d'intensification écologique et de limitation des intrants chimiques dans les écosystèmes anthropisés pour garantir la fourniture d'un grand nombre de SE.** De nombreuses études ont les propriétés physico-chimiques des sols en relation avec des fonctions et/ou services écosystémiques. La *figure 8* montre que le C du sol a été principalement étudié en relation avec des services de régulation.

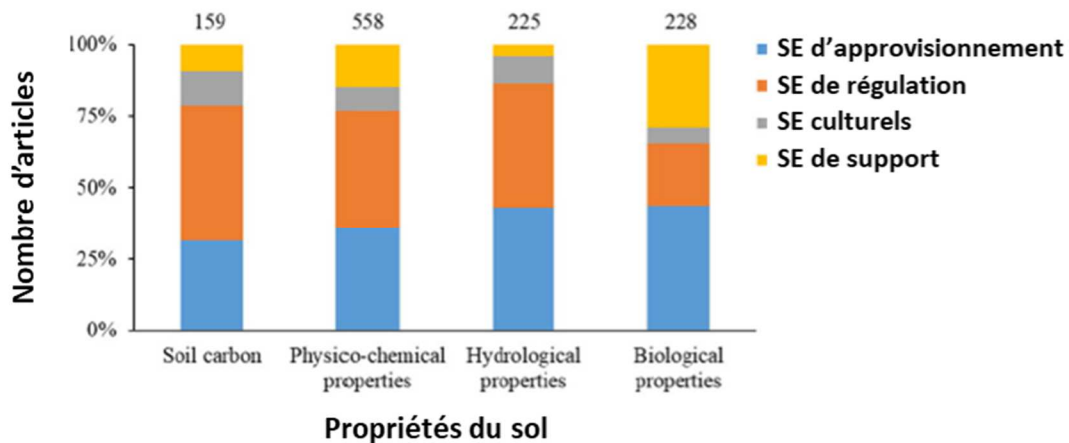


Figure 8 : Nombre d'articles ( $n=935$  entre 1975 et 2014) reliant les propriétés des sols aux services écosystémiques (SE). Le nombre présent au-dessus de chaque histogramme représente le nombre d'articles considérés par catégorie de propriétés du sol (Adhikari et Hartemink, 2016)

Mes travaux de recherche depuis 1998 se sont ainsi focalisés sur le rôle du C et plus largement des plantes vis-à-vis de deux SE de régulation rendus par les sols, (i) la bio-épuration ou atténuation des produits phytosanitaires, (ii) la fourniture d'éléments nutritifs aux plantes en lien avec la notion de fertilité des sols.

Dans un premier temps (1998-2011), l'effet du C labile a été appréhendé en se focalisant sur deux zones du sol délimitée spatialement soit par la présence du système racinaire vivant (cas de la rhizosphère) soit par la présence de résidus de culture ou litières restitués au sol (cas de la résidusphère) (*Figure 9*). Dans cette première partie, les caractéristiques fonctionnelles des végétaux n'ont pas été prises en compte et je me suis située dans des conditions de disponibilité en C non limitante pour visualiser des effets et en étudier les déterminants.



**Le C labile un effecteur majeur de deux fonctions microbiennes dans les sols ?**

Deux communautés fonctionnelles ciblées :

- Dégradation de l'atrazine → minéralisation → SE bioépurant
- Minéralisation des esters de sulfate → minéralisation S → SE fourniture de S minéral

Echelle spatiale : rhizosphère ou résidusphère

Echelle temporelle : environ 6 mois (phénologie ou durée de vie du résidu)

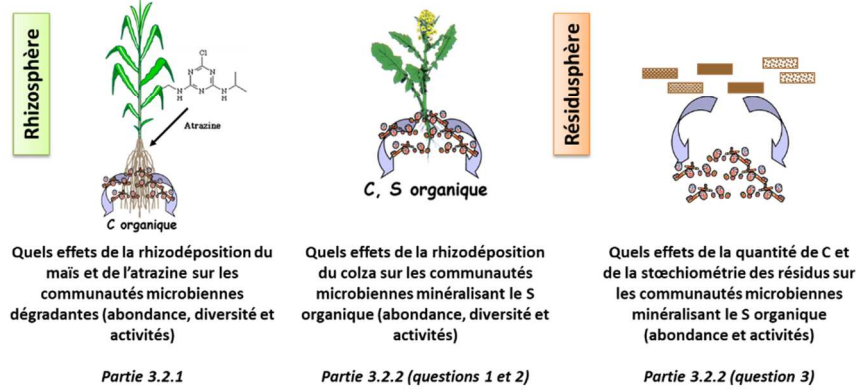


Figure 9 : Les recherches conduites sur la période 1998-2011 sur les effets du C sur les communautés microbiennes fonctionnelles du sol, impliquées soit dans la dégradation de l'atrazine ou la minéralisation des esters de sulfate

Dans un second temps, je me suis focalisée sur les caractéristiques fonctionnelles des espèces végétales et sur les pratiques agricoles comme des filtres susceptibles de moduler les pools de MOS et les communautés microbiennes impliquées dans leur décomposition à l'échelle des peuplements prairiaux et des systèmes de culture (Figure 10).

**La diversité végétale et les pratiques agricoles, des filtres susceptibles de moduler les communautés microbiennes impliquées dans la décomposition des MOS ?**

Les communautés fonctionnelles ciblées :

- Décomposition des MOS → minéralisation N, S → SE fourniture d'éléments minéraux

Peuplements étudiés :

- Prairies
- Cultures annuelles

Echelle spatiale : « bulk » sol

Echelle temporelle : de la phénologie à la succession culturale

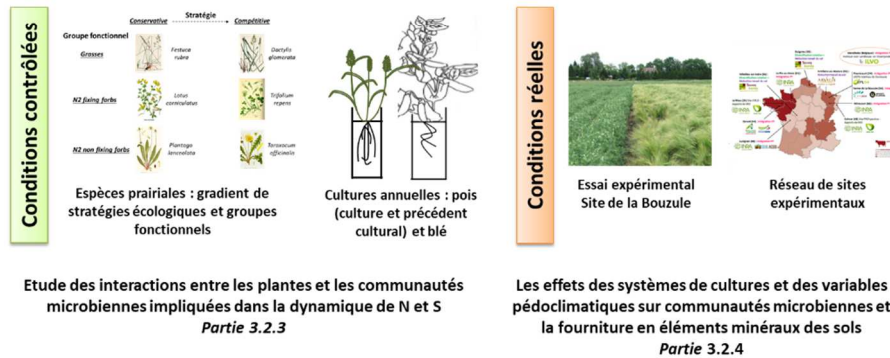


Figure 10 : Les recherches conduites sur la période 2012-2020 sur les effets de la diversité végétale et des systèmes de culture sur les communautés microbiennes impliquées dans la décomposition des MOS et la résultante en termes de fourniture de N et S

### 3.2- Objectifs et thèmes abordés

#### 3.2.1-La rhizosphère, un hot-spot de dégradation des herbicides dans les sols ?

##### 3.2.1.1- Eléments contextuels

Mon travail de doctorat a été réalisé au sein de l'UMR Microbiologie des Sols/Géosol (actuellement UMR Agro-écologie) de Dijon au sein de l'Equipe Pesticides sous la direction de Guy Soulas et de Fabrice Martin-Laurent.

Le contexte politique, sociétal et scientifique au moment de ces travaux n'était pas celui que nous connaissons actuellement. **A l'aube des années 2000, si la préservation des ressources en eau était déjà un objectif décliné de l'échelle européenne à l'échelle française, l'utilisation des produits phytosanitaires, bien que très encadrée, n'était pas aussi remise en question qu'actuellement.** La *figure 11* montre qu'au moment de mon doctorat le volume annuel de substances actives était proche de 120 000 tonnes et plus de 900 matières actives étaient disponibles sur le marché se répartissant pour 49% en herbicides, 25% en insecticides, 20% en fongicides et autres. En 20 ans, les quantités de produits utilisés ont baissé de façon spectaculaire passant de 120 000 tonnes achetées en 2011 par les distributeurs à 68 000 tonnes en 2018 (Source UIPP, communiqué de presse du 7 janvier 2020) notamment du fait du retrait du marché d'anciennes molécules utilisées à fort grammage et leur substitution par de nouvelles familles. Dans le cas du maïs, l'atrazine appliqué à 1 kg ha<sup>-1</sup> au moment de son interdiction en 2003 a ainsi été remplacée par des substances appliquées à quelques dizaines de g ha<sup>-1</sup> (nicosulfuron, mésotrione).

L'Europe constitue encore aujourd'hui le premier marché phytosanitaire (10,6 milliards de dollars en 2010 et 12,2 milliards en 2011). **La France est le 7<sup>ème</sup> utilisateur de produits phytosanitaires en Europe avec une moyenne de 3,2 kg ha<sup>-1</sup> en 2018.** La France au même titre que l'Europe se distingue par l'importance des herbicides (45% des ventes), des fongicides (37 % des ventes) et la faible consommation des insecticides (9 %) (données UIPP 2019-2020).



Figure 11 : Evolution des tonnages des substances actives vendues entre 1998 à 2018

Les produits phytosanitaires ont une fonction exogène à la croissance des plantes qui permet d'atteindre des rendements potentiels. À l'échelle mondiale, une perte moyenne de 35% du rendement potentiel des cultures est liée aux ennemis des cultures (Oerke 2005). La disparité mondiale est forte puisque les pertes en Europe de l'ouest étaient sur la période 1991-1993, deux fois plus faibles que dans le reste du monde (Oerke et Dehne, 1997). **La protection phytosanitaire a ainsi été développée pour la prévention et le contrôle des pertes de récolte au champ (pertes avant récolte) et au cours du stockage.**

Les analyses économiques des bénéfices des produits phytosanitaires sont entravées par le manque de données sur leur utilisation et de modèles économiques pour les cultures mineures et les usages non agricoles (Popp *et al.*, 2013). **Si les avantages de l'utilisation des produits phytosanitaires restent élevés par rapport aux risques, les effets non ciblés de l'exposition des êtres humains et de l'environnement aux résidus de ces produits sont une préoccupation constante.** En effet, dès la fin des années 1980, les premières études faisant état de transferts, en conditions de plein champ, de produits phytosanitaires vers les ressources en eau, commencent à être publiées (Schiavon, 1988). La mise en évidence de ces transferts coïncident avec des travaux qui, à cette même période, indiquaient que dans les conditions d'application alors utilisées, moins de 0,1% des produits appliqués atteignent leurs cibles, suggérant une forte dispersion des produits dans l'environnement et des conséquences en termes de santé publique et de biodiversité dans les agroécosystèmes (Pimentel, 1995).

**Lors d'un traitement phytosanitaire au champ (d'autant plus dans le cas des produits racinaires), le sol est une plaque tournante essentielle à prendre en compte puisque, quelles que soient les modalités d'application, les produits phytosanitaires s'y retrouvent plus ou moins rapidement.** Dès lors, les interactions entre le produit et le milieu sont complexes et déterminantes dans le devenir du produit. Au niveau du sol, le produit se distribue selon 3 phases, gazeuse (volatilisation), liquide (dilution dans la solution de sol) et solide (adsorption sur les associations organo-minérales du sol) selon les constantes d'équilibre d'adsorption, désorption et de volatilisation (Figure 12). Ces constantes varient en fonction des caractéristiques physico-chimiques des produits et des facteurs pédo-climatiques.

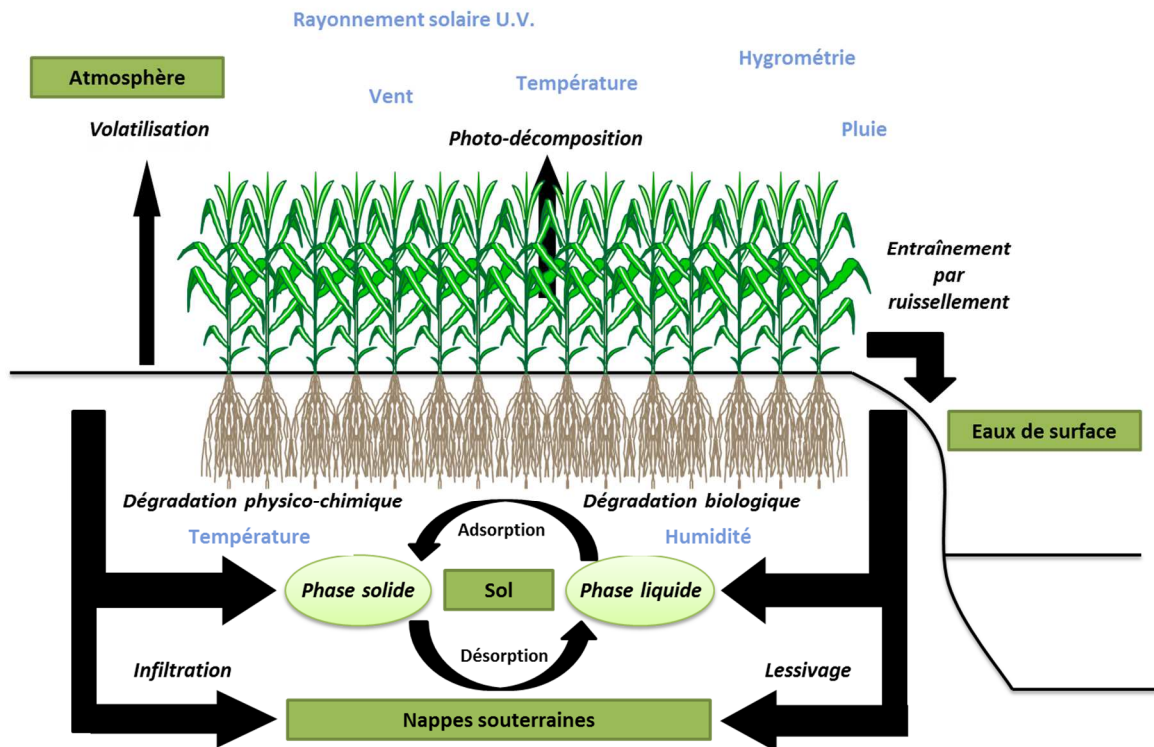


Figure 12 : Principaux phénomènes conditionnant le devenir des produits phytosanitaires

Plusieurs processus contribuent à l'atténuation naturelle des produits phytosanitaires par les sols. Certains concourent à la transformation (métabolisation, photolyse, catalyse) de ces derniers, tandis que d'autres déterminent leur dispersion dans les différents compartiments de l'environnement. La dispersion est liée à la fois à leur rétention (absorption, adsorption-désorption, solubilisation-précipitation, précipitation-sublimation) et leur transport (par les végétaux, la faune, par lessivage,



ruissellement). Seule la fraction dissoute dans la solution de sol est biodisponible c'est-à-dire qu'elle peut atteindre la cible et exercer l'effet recherché mais peut aussi être entraînée vers d'autres compartiments, ou dégradée par les micro-organismes du sol. La dégradation est la seule fonction qui permet de diminuer la persistance du produit dans le sol. **Il existe deux types de dégradation :**

- La première qualifiée de **métabolique** concerne les micro-organismes qui disposent d'une panoplie d'enzymes suffisantes pour dégrader entièrement la molécule et utiliser le C et/ou l'azote (N) libéré comme source d'énergie. La prolifération de ces micro-organismes dans les sols conduit à la mise en place d'une biodégradation accélérée de la molécule ;
- La seconde voie de dégradation est dite **co-métabolique**. Dans ce cas, les micro-organismes dépourvus de certaines enzymes ne peuvent qu'altérer partiellement la molécule ce qui conduit à la production de métabolites de dégradation susceptibles de se disperser vers d'autres compartiments de l'environnement et/ou de s'accumuler dans les sols et/ou d'être dégradés par d'autres micro-organismes.

Les conditions dans les sols ne sont pas toujours réunies pour permettre optimiser la bio-épuration. De nombreux exemples de persistance exagérée (cas des organo-chlorés) ont conduit à envisager de stimuler ou de suppléer le potentiel naturel de biodégradation microbienne dans les sols. Deux approches biologiques peuvent être envisagées :

- **La bioaugmentation est une approche basée sur des inoculations bactériennes *in situ* de façon à renforcer une activité biologique spécifique.** Les études portant sur l'inoculation de sols agricoles contaminés par des produits phytosanitaires avec des souches dégradantes restent encore peu développées (Struthers *et al.*, 1998; Newcombe et Crowley, 1999), d'autant que leur rentabilité économique reste à démontrer. Bien qu'applicable conceptuellement, elle nécessite cependant une importante connaissance des souches microbiennes introduites et de leur comportement une fois introduites dans le sol (efficacité, compétitivité).
- Face à ces limites, **une alternative consistant à stimuler *in situ* l'activité naturelle des communautés microbiennes indigènes du sol par des apports exogènes de substrats carbonés peut apparaître intéressante. Il s'agit de la biostimulation.** Ces apports de substrats carbonés peuvent agir soit en immobilisant les molécules sur les particules de sol par formation de résidus liés soit en stimulant l'activité de dégradation des communautés microbiennes (champignons et bactéries) du sol. Ces apports de C peuvent être envisagés sous la forme de résidus de culture, de produits résiduels organiques (PRO) ... mais aussi sous la forme de rhizodépôts libérés au cours de la croissance et du développement des végétaux. Le facteur limitant de la biostimulation réside dans le choix du substrat à introduire lorsque l'on veut augmenter la dégradation d'un produit phytosanitaire et donc diminuer sa persistance dans un sol. C'est cette voie biologique qui a été choisie pour mon doctorat en considérant plus particulièrement l'effet de la présence de la culture en tant qu'effecteur des communautés microbiennes indigènes. **Pour justifier l'intérêt de la plante dans ce contexte de biostimulation, différents éléments peuvent être avancés :**

- **Les végétaux sont une voie importante d'entrée de C dans le sol par le biais de la rhizodéposition, qui se rapporte à l'ensemble des composés organiques libérés par les racines vivantes.** (Nguyen, 2003). La rhizodéposition peut représenter 20 à 30% des photoassimilats dans le cas de cultures céréalières et 30 à 50% dans le cas d'un couvert prairial. Durant la période de végétation, l'entrée de carbone dans le sol représente donc respectivement 1500 et 2200 kg C ha<sup>-1</sup> en cultures céréalières et prairiales (Kuzyakov et Domanski, 2000). A partir de données en conditions contrôlées Pausch *et al.* (2013) ont extrapolé la libération de C à 166 kg C ha<sup>-1</sup> dans le cas du maïs sur la période d'avril à juin, soit en moyenne, près de 40% du carbone assimilé par les parties aériennes qui sont exportés vers les racines. Ce C a plusieurs devenir avec des proportions variables selon les espèces végétales et les stades de développement : il peut être (i) incorporé dans les racines (51 %), (ii) minéralisé *via* la respiration racinaire et microbienne (33%), (iii) stabilisé dans le sol notamment dans des composés microbiens (16 %) (Nguyen, 2003). Dans le cas du maïs, la proportion de ce C incorporé dans la biomasse microbienne est de 7 % (Pausch *et al.*, 2013). La proportion de C retrouvée dans le sol est globalement faible et ne

correspond qu'à 6% du C fixé ce qui suggère notamment que les rhizodépôts ont des temps de demi vie très court dans les sols. La majorité des rhizodépôts correspondent à des composés solubles, exsudats racinaires, facilement disponibles pour les microorganismes et dont la majeure partie (64% à 86%) est minéralisée (Werth et Kuzyakov, 2008) contre quelques pourcents de ce C accumulées dans la MOS (Helal et Sauerbeck, 1989; Hütsch *et al.*, 2002). Parmi ces exsudats, les glucides (essentiellement des monosaccharides) représentent chez le maïs 64% du C total dont le glucose qui a lui seul correspond à la moitié de ce pool de C (Hütsch *et al.*, 2002). La concentration en sucre dans la solution du sol stimule le métabolisme microbien en favorisant la transition des micro-organismes dormants vers des phases actives (Blagodatskaya et Kuzyakov, 2013) et la synthèse d'enzyme de décomposition des MOS induisant des effets de priming (Kuzyakov, 2010). Les sucres ont une contribution dans la formation d'agrégats du fait de leur capacité à lier les particules minérales et organiques (Oades, 1984; Guggenberger *et al.*, 1999). Le temps de résidence des sucres simples dans les sols est très court sachant que ces composés peuvent être utilisés par les micro-organismes en quelques minutes (Jones et Murphy, 2007) pour des processus cataboliques (respiration) et anaboliques (synthèse de composés microbiens). Le taux de minéralisation du glucose dans les sols est ainsi très rapide (de l'ordre de  $1,1\% \text{ min}^{-1}$ , taux de résidence moyen dans le sol de 34 min) mais diminue fortement lorsque ce C est incorporé dans les composés microbiens (Gunina et Kuzyakov, 2015). Le second pool d'exsudats correspond aux acides aminés dont le temps de demi-vie moyen calculé dans les sols agricoles est de de l'ordre de 2,3 heures (Jones *et al.*, 2005).

- L'interface entre le sol, la racine et les micro-organismes qui est plus connue sous la dénomination de rhizosphère constitue du fait des modifications de teneurs en eau, de pH, de potentiel d'oxydo-réduction, de disponibilité en C, N et autres éléments, une zone privilégiée d'activité microbienne. Les conditions présentes dans la rhizosphère peuvent constituer une pression de sélection à même d'engendrer des modifications d'abondance et de diversité des communautés microbiennes voire de favoriser des transferts génétiques.

**La rhizosphère constitue donc un écosystème à part entière au sein duquel les processus de dégradation microbienne des molécules phytosanitaires pourraient répondre à des caractéristiques métaboliques et physiologiques différentes de celles qui existent dans le sol nu.**

### 3.2.1.2- Objectif général et hypothèses

**L'objectif général de mon doctorat a été d'étudier les effets « biostimulants » de la rhizosphère sur la sélection de micro-organismes dégradants et *in fine* la dégradation de différents produits phytosanitaires dans la rhizosphère d'espèces végétales représentatives des systèmes de culture français.** L'hypothèse forte de ce travail était que la plante du fait de son activité racinaire (libération de rhizodépôts, modification de pH...) modifiait considérablement le sol et favorisait l'installation et le développement de micro-organismes dégradants<sup>4</sup> plus ou moins associés aux racines. Au début de ce travail, en 1998, 25 études portant sur la dégradation de xénobiotiques en sols rhizosphériques étaient disponibles dans la littérature scientifique dont 60% sur les produits phytosanitaires (herbicides et insecticides). Les herbicides les plus étudiés étaient alors le 2,4-D et l'atrazine. Ce travail s'est réalisé en deux étapes :

- Etape 1 : Criblage de différents couples plante-herbicide en vue d'identifier des effets rhizosphères bénéfiques sur la biodégradation des herbicides
- Etape 2 : Etude du couple modèle maïs-atrazine afin de mieux comprendre l'effet de la plante et notamment de son activité racinaire sur la sélection des micro-organismes dégradants et *in fine* sur la mise en place de la biodégradation accélérée.

<sup>4</sup> Micro-organismes dégradants : micro-organismes présentant une capacité de dégradation d'une molécule au travers de l'expression d'une ou plusieurs activités enzymatiques

### 3.2.1.3- Etape 1 : Criblage de différents couples plantes-herbicides en vue d'identifier des effets rhizosphères sur la biodégradation des herbicides

Dans un premier temps, j'ai effectué un criblage de différents couples plantes-herbicides communément utilisés dans les systèmes agricoles en région Bourgogne (en concertation avec la Chambre départementale d'agriculture de Côte d'Or pour le choix des espèces cultivées) afin de mettre en évidence des effets rhizosphères intéressants sur la dégradation des herbicides compatibles choisis. L'Equipe Pesticides de l'UMR Microbiologie des Sols/Géosol travaillait alors sur différentes substances actives de la catégorie des herbicides dont le 2,4-D, MCPA, atrazine, diuron... Néanmoins, jusqu'alors, les processus de sélection de micro-organismes dégradants n'étaient appréhendés que dans des microcosmes de sol nu amendés avec les herbicides indépendamment de l'influence directe de la plante au cours de sa phénologie. La première partie de mon travail a donc consisté à cultiver en conditions contrôlées (i.e. serre) différentes espèces végétales en apportant au semis en application racinaire les herbicides compatibles. Les couples plante-herbicide retenus ont été les suivants : maïs/atrazine, blé ou colza ou soja/diclofop-méthyl, maïs ou blé ou soja/bentazone. Le sol utilisé pour cette première étape avait été collecté sur une parcelle maintenue en jachère du domaine de l'INRA Dijon-Epoisses et donc n'ayant pas reçu d'herbicides depuis une dizaine d'années. Pour chaque couple étudié, quatre modalités (sol nu, sol nu traité avec l'herbicide, sol cultivé non traité, sol cultivé et traité) et 5 répétitions/modalité ont été mises en place (*Photographie 1*).



*Photographie 1 : Dispositif expérimental en serre*

Les plantes ont été cultivées dans le même pot pendant 5 cycles culturaux successifs de 8 semaines. La période de 8 semaines a permis de travailler sur la phase végétative du cycle de développement notamment parce que le stade de développement de la plante influence de manière significative la quantité de C rhizodéposé (Vancura *et al.*, 1977 ; Swinnen *et al.* 1994a, b ; Keith *et al.*, 1986) avec des quantités plus importantes en phase végétative ( $130 \text{ kg C ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$  chez le blé en début d'élongation) qu'au stade grain mature ( $70 \text{ kg C ha}^{-1} \text{ an}^{-1}$ ) (Swinnen *et al.*, 1994a, b).

Seuls les résultats obtenus sur l'atrazine seront repris dans cette partie de façon à rester en cohérence avec la seconde partie de la thèse focalisée sur les effets du maïs sur les communautés microbiennes dégradant cette molécule. **La succession de cycles culturaux en serre est à l'origine d'une augmentation significative de la biomasse microbienne carbonée dans les sols cultivés en maïs en comparaison des sols nus suggérant l'existence d'un effet rhizosphère.** Cet effet est d'autant plus marqué sous les Poacées comme le maïs en comparaison des autres espèces dicotylédones (*Figure 13*).

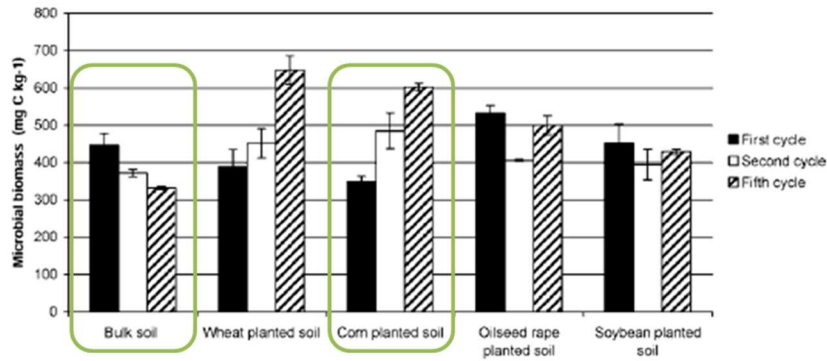


Figure 13 : Biomasse microbienne carbonée mesurée en sols nus et rhizosphériques pour différentes espèces cultivées sur plusieurs cycles de végétation (moyenne  $\pm$  SD,  $n = 15$ ) (Piutti et al., 2002a)

Si l'application d'atrazine n'a pas d'impact sur la biomasse microbienne carbonée, cette dernière a un effet très significatif sur la capacité de minéralisation de cet herbicide dans les sols cultivés ou non avec du maïs (Figure 14). **Ces résultats suggèrent donc un effet stimulant de la plante sur la taille de la biomasse microbienne du sol (effet rhizosphère) alors que l'application d'atrazine est responsable d'une sélection et potentiellement d'une forte augmentation de la taille de la communauté microbienne dégradante conduisant à des phénomènes de biodégradation accélérée de l'atrazine dans les sols.** Ainsi, les cinétiques de minéralisation des sols ayant reçu une application d'atrazine en serre présentent les caractéristiques d'une adaptation c'est à dire une phase de latence inexistante, durée de demi-vie réduite et enfin un plateau atteignant presque 90% de minéralisation après 49 jours d'incubation au laboratoire (Figure 14). A l'inverse, les courbes des échantillons non traités en serre avec de l'atrazine présentent des caractéristiques de sol en cours d'adaptation (phases de latence de l'ordre de 10 jours, durée de demi-vie de l'ordre de 32 jours, plateau atteignant 65% de minéralisation après 49 jours d'incubation).

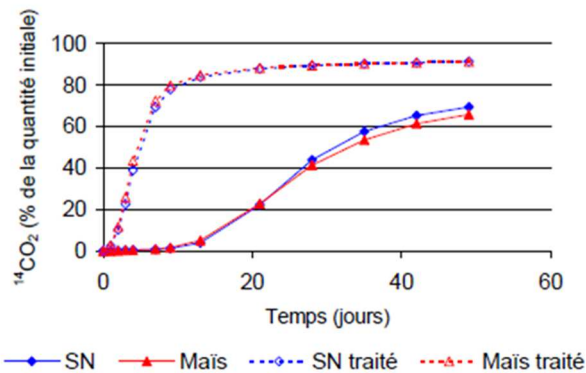


Figure 14 : Cinétiques de minéralisation d'atrazine marquée au  $^{14}C$  sur le cycle dans les sols nus et rhizosphériques pré-traités ou non avec de l'atrazine (Piutti et al., 2002b)

#### 3.2.1.4- Etape 2 : Etude du couple modèle maïs-atrazine afin de mieux comprendre l'effet de la plante et notamment de son activité racinaire sur la sélection des micro-organismes dégradants et *in fine* sur la mise en place de la biodégradation accélérée

Cette seconde partie ciblée sur le modèle atrazine a été réalisée sur un sol de la ferme expérimentale de la Bouzule qui n'avait pas reçu d'atrazine depuis 1991. Les suivis de qualité d'eau au niveau du réseau de drainage indiquaient encore des fuites d'atrazine et de ses métabolites plusieurs années après les dernières applications au champ suggérant une capacité de dégradation lente de cette molécule dans le sol. Un essai en serre a été mis en place en utilisant ce sol avec le couple maïs-atrazine dans les mêmes conditions expérimentales que précédemment. Quatre conditions ont été choisies

pour étudier l'effet de la culture du maïs sur la dégradation de l'atrazine dans le sol : sol non cultivé (SN), sol non cultivé et traité avec de l'atrazine en serre (SNT), sol cultivé avec du maïs non traité (M) et sol cultivé avec du maïs traité et avec de l'atrazine en serre (MT). Pour chaque traitement, 5 répétitions ont été réalisées. Après 8 semaines de culture, tous les échantillons ont été récoltés et environ 250 g (équivalent poids sec) de sol ont été récupérés pour réaliser des analyses au laboratoire. Le reste du sol a été remis dans les pots et un nouveau cycle de culture a été entamé. L'essai a été arrêté après trois cycles de culture successifs. Au cours de ce travail, 4 pieds de maïs se sont développés durant 8 semaines dans 1,5 kg de terre, alors que dans le cas d'une culture au champ, le système racinaire d'un pied de maïs peut explorer jusqu'à 60 kg de terre au cours de son développement. Dans nos conditions de culture, la densité racinaire obtenue au moment de la récolte était très importante de sorte que l'ensemble du sol contenu dans le pot de culture a été considéré comme rhizosphérique en gardant à l'esprit que cette désignation n'est pas comparable *sensu stricto* à la définition de la rhizosphère.

Les principaux résultats de cette seconde partie mettent en évidence :

- Un fort **effet rhizosphère du maïs se traduisant par une augmentation de l'ordre de 50% de la biomasse microbienne dans les sols cultivés avec du maïs**,
- **Aucun effet délétère de l'atrazine sur la taille et la structure génétique de la communauté microbienne du sol** n'a été mis en évidence 8 semaines après application à la dose agronomique.
- La comparaison des paramètres déterminés après modélisation des cinétiques de minéralisation de l'atrazine a mis en évidence **un effet très significatif de l'application d'atrazine sur la mise en place d'une biodégradation accélérée**. De plus, **la présence du maïs induit dans le cas des sols présentant une biodégradation accélérée une vitesse de minéralisation 45% supérieure à celle du sol nu** (Figure 15).
- Dans le cas des sols présentant une biodégradation accélérée, **la cinétique de minéralisation et la quantification d'un gène de dégradation (i.e. gène atzC) évoluent de façon synergique, le maximum de détection du gène atzC correspondant à la vitesse maximale de la cinétique de minéralisation** (Figure 15).

Ces résultats suggèrent une interaction entre l'environnement racinaire du maïs et l'application de l'herbicide sur la sélection des micro-organismes dégradants et la mise en place de la biodégradation accélérée. **Si l'application d'atrazine en serre est déterminante pour la sélection de micro-organismes dégradants, la présence du maïs permettrait une meilleure survie (nombre de copies de gène plus élevé à T0) de ces derniers du fait de conditions trophiques plus favorables dans la rhizosphère qu'en sol nu.**

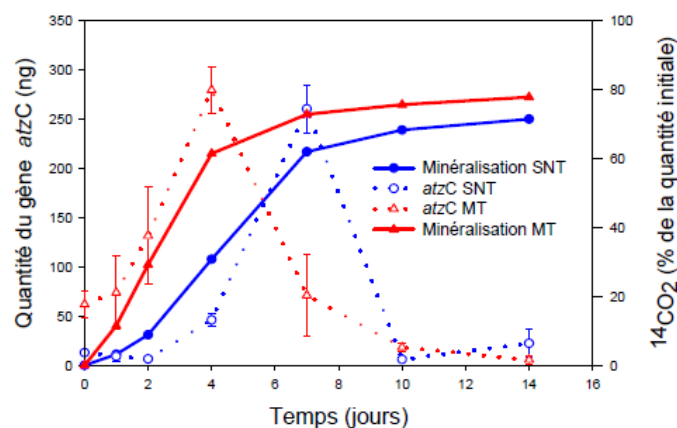


Figure 15 : Relation entre la détection dans le sol du gène atzC et la cinétique de minéralisation d'atrazine marquée au  $^{14}\text{C}$  sur le cycle dans des sols nu (SNT) ou rhizosphérique (M) pré-traités avec de l'atrazine (Piutti et al., 2002b)



**Caractère innovant de ces travaux et retombées potentielles**

L'analyse que j'ai conduite à plusieurs niveaux au cours de mon travail de thèse, m'autorise à suggérer que **l'application d'atrazine pendant la culture de maïs permettrait une sélection de micro-organismes rhizosphériques capables d'utiliser cet herbicide comme un substrat de croissance**. Dans les semaines suivant l'application et après minéralisation rapide de ce substrat, ces populations dégradantes pourraient se maintenir à un niveau supérieur dans la rhizosphère du maïs en comparaison d'un sol nu grâce à **une meilleure survie du fait des composés libérés par les processus de rhizodéposition**. De même, en permettant le maintien d'une certaine activité microbienne, la plante permet certainement une meilleure persistance des gènes de dégradation en favorisant les échanges génétiques et leur dissémination dans le reste de la communauté microbienne (van Elsas *et al.*, 1988 ; Smit *et al.*, 1996).

Ces différents éléments expliqueraient qu'après une seconde application d'atrazine au laboratoire, les populations microbiennes rhizosphériques dégradant l'atrazine sont plus aptes que celles du sol nu conduisant à une vitesse initiale de minéralisation plus importante en sols rhizosphériques. En plus, des éléments de compréhension apportés sur les déterminants de la mise en place de la biodégradation accélérée dans la rhizosphère, **ce travail a permis d'isoler différentes souches bactériennes capables de dégrader notamment l'atrazine mais aussi un autre herbicide, le diclofop-méthyl. Ces isolats présentent des potentialités écologiques intéressantes pour renforcer le SE étudié, à savoir la bio-épuration ou atténuation naturelle**. Ce SE contribue à diminuer la persistance de ces produits dans les écosystèmes agricoles. Il limite non seulement l'impact écotoxicologique des produits phytosanitaires dans ces écosystèmes mais aussi leur dispersion vers d'autres compartiments aquatique ou atmosphérique. Il contribue à la dissipation des résidus de produits appliqués sur les cultures au sein des parcelles agricoles et des zones exposées comme les zones tampon ou les bandes enherbées par exemple. Ce SE rendu par les sols bénéficie ainsi à plusieurs acteurs. Les agriculteurs, tout d'abord, car en diminuant la persistance des produits chimiques dans les parcelles agricoles, il diminue l'impact écotoxicologique sur les organismes non cibles impliqués dans d'autres fonctions et/ou services (qualité et fertilité des sols, régulation biologique) et en limitant les effets non intentionnels sur les cultures. Ce SE bénéficie également à la société. Il diminue, en effet, le transfert des produits phytosanitaires vers les ressources en eau, ce qui répond aux attentes de la société en termes de qualité de l'eau de consommation et des cours d'eau pour des fonctions récréatives. Toutefois, les leviers agronomiques (travail du sol, entrées de C sous forme d'amendements organiques, diversité de la succession végétale...), pour renforcer ce SE ne sont pas forcément encore bien caractérisés pour l'ensemble des conditions pédo-climatiques. **Ainsi, si l'on considère les apports de C dans un contexte de biostimulation, une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans les interactions entre la plante, les micro-organismes et les produits phytosanitaires au sein de la rhizosphère serait garante d'une optimisation des processus de biostimulation de la dégradation des produits phytosanitaires dans les sols.**

**Ce travail a aussi permis de mettre en évidence la nécessité de disposer d'outils pour suivre spécifiquement les populations microbiennes impliquées dans la dégradation de l'atrazine**. En effet la simple utilisation d'indicateurs globaux de type biomasse microbienne carbonée ne permet pas de détecter des variations sensibles des populations dégradant l'atrazine. Ces populations présentes en faible nombre dans le sol ( $10^3$  UFC  $g^{-1}$  selon Jayachandran *et al.*, 1998) subissent des variations certainement de trop faible amplitude pour se refléter dans l'évolution du C microbien total. Le développement d'une méthode de quantification d'un gène de fonction codant une enzyme impliquée dans la minéralisation de l'atrazine a mis en évidence une corrélation étroite avec le potentiel de minéralisation de l'atrazine et d'amorcer une transition sur des approches fonctionnelles. **Avec le recul, ce travail aura été précurseur au moment où l'écologie microbienne, alors discipline en émergence, développait essentiellement des outils pour décrire la diversité taxonomique du sol et de la rhizosphère sans volonté de comprendre voire de prédire des fonctions écosystémiques.**

**Ce travail a été valorisé au travers de 7 publications scientifiques sur la période 2002-2006.**

3.2.2-Les micro-organismes impliqués dans le cycle interne du soufre dans les sols : influence du C et du S sur la taille, la diversité et l'activité de ces communautés microbiennes fonctionnelles

Lors de mon recrutement en tant que Maître de Conférences à l'UMR Agronomie et Environnement, j'ai intégré l'équipe "Rhizosphère" dont l'un des objectifs était notamment de comprendre les déterminismes des flux de minéralisation/organisation (ou immobilisation) de soufre (S) dans les sols agricoles.

3.2.2.1- Eléments contextuels et cadre conceptuel de recherche sur le déterminisme des flux de S

Les travaux détaillés dans cette partie ont contribué à la recherche des déterminants des flux de S dans différents compartiments présentant des disponibilités en C différentes (nature et quantité), le sol nu / la rhizosphère / la résidusphère (zone sous influence des résidus de culture ou plus généralement des litières) avec un **focus sur les caractéristiques fonctionnelles des micro-organismes (notamment exprimant l'activité arylsulfatase ou ARS) impliqués dans les flux de minéralisation de S**. La figure 16 reprend les différentes questions que j'ai pu aborder sur ce volet entre 2003 et 2011.

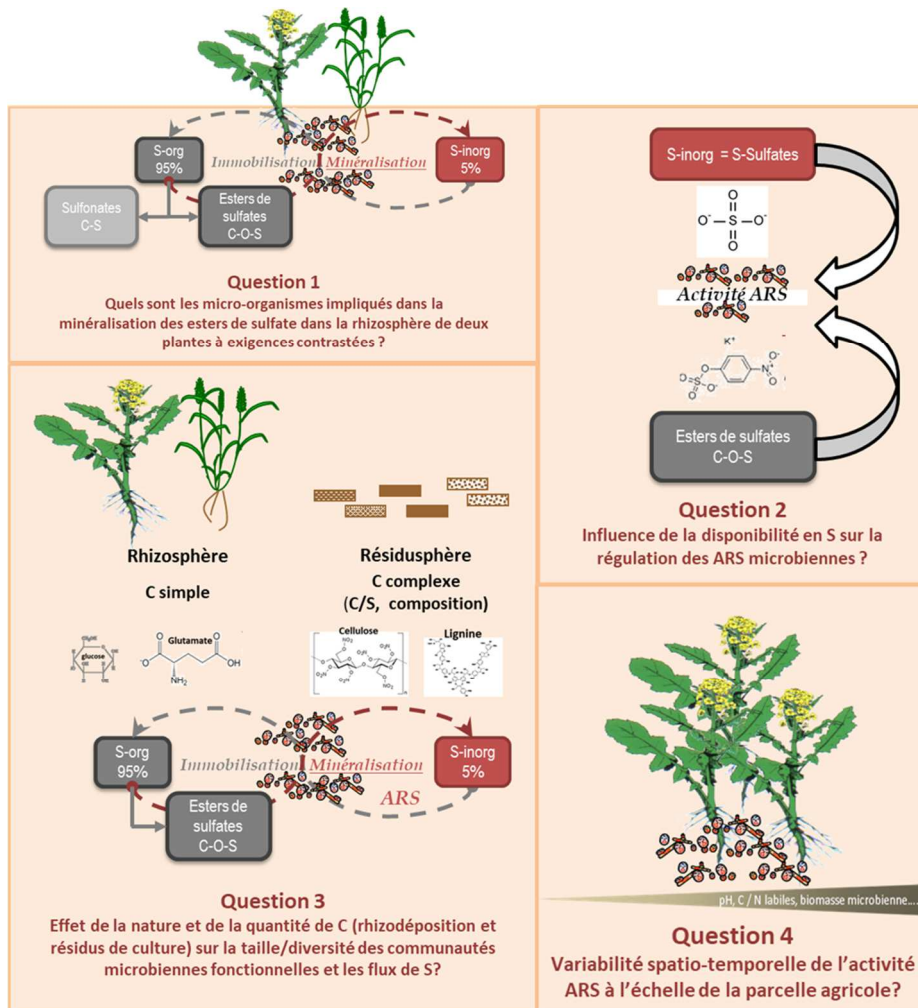
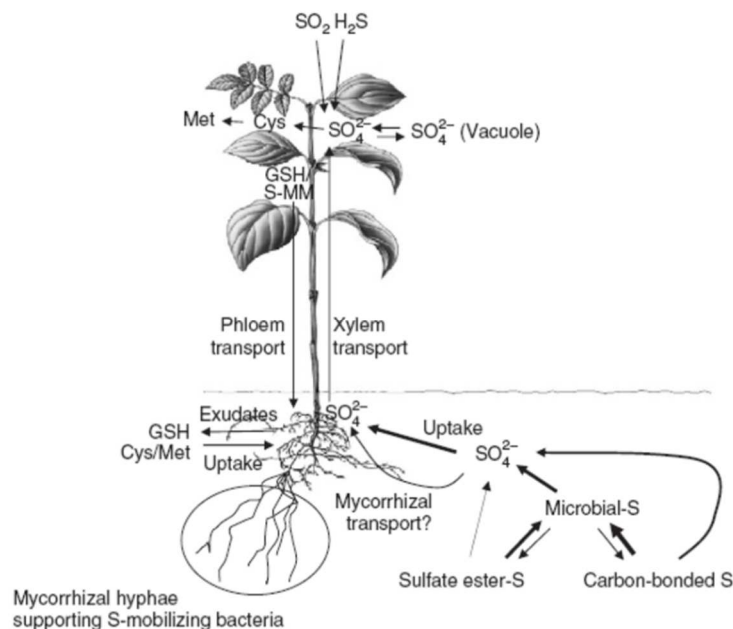


Figure 16 : Les différentes questions abordées sur la période 2003-2011 en lien les effets du C et du S sur les communautés microbiennes impliquées dans la minéralisation du S organique

**Le soufre est un élément qui présente de nombreuses analogies avec l’N tant du point de vue des rôles qui a chez le végétal que de son cycle biologique pour lequel la principale forme de réserve est la forme organique.** L’évaluation des réserves en S total des sols montre des teneurs comprises entre 300 et 2000 kg de S ha<sup>-1</sup>. Les sols français présentant les plus fortes teneurs en S total (de l’ordre de 0,3 à 0,4 ‰) sont tous les sols calcaires riches en MO (teneurs supérieures à 3%) (Simon-Sylvestre, 1969). En général, le S total est fortement corrélé avec le C organique dans les sols (Kirchmann *et al.*, 1996). Les rapports C/N/S des sols sont constants de l’ordre de 100/10/1 (Studer, 1984) avec des rapports C/S de l’ordre de 50 à 120 selon les sols (Kirkby *et al.*, 2011).

Constituant d’acides aminés essentiels et de liaisons disulfures, S joue un rôle essentiel dans la formation de protéines et d’enzymes chez les êtres vivants. **La nutrition des plantes est basée essentiellement sur l’absorption et l’assimilation des formes minérales de S.** Les plantes absorbent différentes formes minérales de S : (i) minoritairement le S élémentaire contenu dans les sols ou dans certains intrants (ii) modérément la forme SO<sub>2</sub> présente dans les dépôts atmosphériques et qui pénètre par les stomates, (iii) très majoritairement la forme sulfate (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) provenant de la minéralisation des formes organiques de S du sol (*Figure 17*).



*Figure 17 : Les différentes sources d'alimentation en S pour les plantes (Kertesz *et al.*, 2007)*

**Si la teneur en S total des sols français est relativement importante (300-2000 kg.ha<sup>-1</sup>), les teneurs en sulfate, forme très mobile et facilement lixiviable notamment dans les sols filtrants, sont souvent inférieures à 10 mg S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>.kg<sup>-1</sup> soit environ 30 kg S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> ha<sup>-1</sup>, valeurs considérées inadaptées à la croissance optimale de la majorité des grandes cultures.** En effet, les céréales et les Brassicacées (tels que le colza) nécessitent respectivement un minimum de 30 à 80 kg S-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> ha<sup>-1</sup> pour boucler leur cycle de développement. En dessous de ces apports, les cultures manifestent une déficience en S qui se traduit par un développement foliaire réduit et chlorotique des jeunes feuilles, une pigmentation anthocyanique des feuilles matures (chez les Brassicacées) et finalement une chute de rendement et une baisse de la qualité nutritionnelle des récoltes. Ces déficiences en S peuvent également modifier la composition floristique des prairies et *in fine* altérer leur productivité (Tallec *et al.*, 2008).

En Europe, du fait (i) de la réduction des dépôts atmosphériques depuis une trentaine d’années, (ii) de l’abandon progressif d’engrais binaires et ternaires riches en S, (iii) de l’utilisation de variétés à haut rendement et l’exportation des résidus de culture qui réduit les restitutions de matières organiques soufrées labiles, S est devenu l’un des éléments les plus limitants de la production agricole (Zhao *et al.*, 1999). Actuellement un apport systématique de S minéral est réalisé sur colza pour éviter les carences



susceptibles de diminuer le rendement et améliorer la qualité des produits, notamment la teneur en huile (Merrien, 1996). Chez les Brassicacées, comme le colza, particulièrement exigeantes en cet élément (30 kg S / ha), le S en conditions non-limitantes a un rôle (i) sur la croissance et le développement, (ii) sur la résistance vis-à-vis des organismes pathogènes (sulfur induced resistance ; Bloem *et al.*, 2005), (iii) sur l'accumulation de métabolites secondaires soufrés tels que les glucosinolates transformés par les communautés microbiennes intestinales en isothiocyanates, molécules à activités anti-cancérigènes (Rouzaud *et al.*, 2003). Dans le cas du blé tendre, l'apport systématique n'est pas toujours rentable même si le statut soufré est corrélé à la composition protéique du grain et à la qualité boulangère (Zhao *et al.*, 1999).

La recherche d'optimisation économique par les agriculteurs passe par une meilleure maîtrise de la fertilisation soufrée pour laquelle, faute de bilan prévisionnel, les règles de décision sont encore très empiriques (Bouthier *et al.*, 2007). **La connaissance de la teneur en S total d'un sol renseigne sur l'importance des réserves mais ne permet pas de quantifier les fournitures de sulfates pour les plantes.** Du fait de l'extrême sensibilité à la percolation de la forme sulfates, la quantification instantanée de ce pool du sol, ne peut renseigner sur la capacité du sol à assurer la croissance de la plante, indépendamment de la prise en compte des processus contribuant à l'évolution temporelle de la taille de ce pool. **L'ensemble de ces éléments met en exergue la nécessité de développer des recherches visant à mieux connaître la dynamique de S dans le sol et à identifier les déterminants biotiques et abiotiques de celle-ci afin de mieux prédire la disponibilité en sulfates pour les plantes.** Le S organique peut ainsi représenter jusqu'à 90% du S total présent dans la plupart des sols (Tabatabai, 1984) et c'est la minéralisation de ces formes organiques, du fait de transformations microbiennes, qui permet la libération des sulfates nécessaires à la nutrition de la plante. La complexité des formes organiques de S reste encore peu renseignée dans la littérature scientifique du fait de l'absence de méthodes simples d'extraction et de séparation de ces dernières sans modification de leur composition et/ou structure chimique. Deux grands pools de S organiques sont différenciés dans les sols (Freney, 1986 ; Zhao *et al.*, 1996, Zhao *et al.*, 2006) :

- **Le S réductible à l'acide iodhydrique (HI) représente les composés soufrés non directement liés au C, et comprend surtout les esters de sulfate (-C-O-S-) et les sulfamates (-C-N-S-).** Les esters de sulfate proviennent principalement du métabolisme microbien (composés structuraux et formes de réserves) (McLaren *et al.*, 1985; Fitzgerald 1978). Les esters de sulfate sont considérés par certains auteurs comme des sources de S facilement disponibles pour les métabolismes végétaux et microbiens (Freney *et al.*, 1971 ; Fitzgerald 1978; Hu *et al.*, 2002), du fait d'une labilité plus grande et *in fine* une minéralisation plus rapide que les autres composés soufrés (Schindler *et al.*, 1986; Biederbeck 1978). Néanmoins les esters de sulfate du fait de leur grande diversité de nature biochimique peuvent présenter un large gradient de labilité. Ces composés se concentrent essentiellement dans les fractions les plus fines du sol (Scherrer *et al.*, 2012) ce qui peut les protéger des enzymes microbiennes et de ce fait limiter leur turnover. **Aussi les esters de sulfate nouvellement formés tendent à être biochimiquement moins stables que les esters de sulfate stabilisés dans la MOS du fait de différences d'accessibilité de ces substrats pour les enzymes de dégradation de type sulfatase** (Lou et Warman, 1992). **Ce pool peut représenter dans les sols tempérés entre de 30 à 70 % du S organique** (Freney, 1986),
- **Le S lié au C qui inclut les acides aminés soufrés, disulfides, mercaptans, sulfones et les sulfonates.** Les composés C-S proviennent majoritairement des litières végétales aériennes et racinaires, bien que certains soient présents dans la biomasse microbienne. **Certains travaux suggèrent que ce pool serait moins stable que le précédent dans les sols** (Solomon *et al.*, 2003).

Différents auteurs ont décrit les processus de transformations susceptibles de libérer des sulfates à partir du pool de S organique ainsi que les facteurs influençant ces transformations (Eriksen *et al.*, 1998 ; Scherer, 2001). **L'efficacité de ces transformations dépend notamment de la présence et de l'activité des micro-organismes capables de réaliser cette minéralisation.** Une partie du S organique décomposée par les micro-organismes du sol est organisée sous forme de composés microbiens tandis qu'une autre partie est minéralisée pour libérer des sulfates dans le milieu. Les processus de

minéralisation et immobilisation<sup>5</sup> microbienne régissent ainsi la taille des pools de S organique et minéral dans les sols et l'ensemble constitue le cycle interne du S (Figure 18). La résultante nette des flux de minéralisation et d'immobilisation si elle est positive correspond à une libération de sulfates disponibles pour la croissance des plantes.

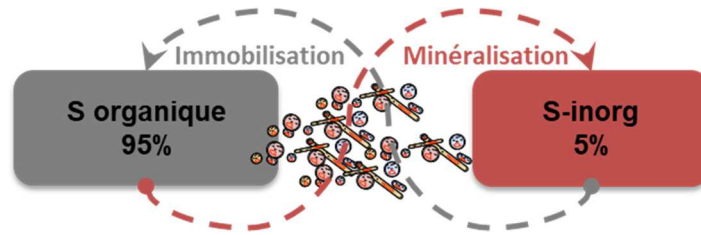


Figure 18 : Schéma des processus régissant le cycle interne de S dans les sols

3.2.2.2- Caractérisation des communautés microbiennes fonctionnelles (questions 1 et 2, figure 16)

**Du fait des différentes formes de S organique (esters de sulfate, sulfonates, sulfamates) présentes dans les sols, de nombreuses enzymes sont impliquées dans la minéralisation du pool de S organique (Eriksen *et al.*, 1998). Selon Mc Gill et Cole (1981) il existe deux grandes voies de minéralisation du S organique en fonction de la nature des composés présents dans les sols (Figure 19). Les composés soufrés organiques présentant des liaisons C-S (acides aminés soufrés, sulfonates) seraient minéralisés par des enzymes de la famille des sulfonatasés pour répondre à une demande directe en C des micro-organismes, l'oxydation libérant potentiellement des formes de S minérales. A l'inverse, les composés organiques de type esters de sulfate (polysaccharides, choline-sulfates, lipides sulfatés) seraient minéralisés par une famille d'enzymes, les arylsulfatasés (ARS) essentiellement pour répondre à la demande en S des micro-organismes. Cette famille d'enzymes est la plus étudiée du cycle de S notamment parce qu'elle est considérée depuis de nombreuses années comme un marqueur de la qualité des sols (Acosta-Martinez et Tabatabai, 2000).**

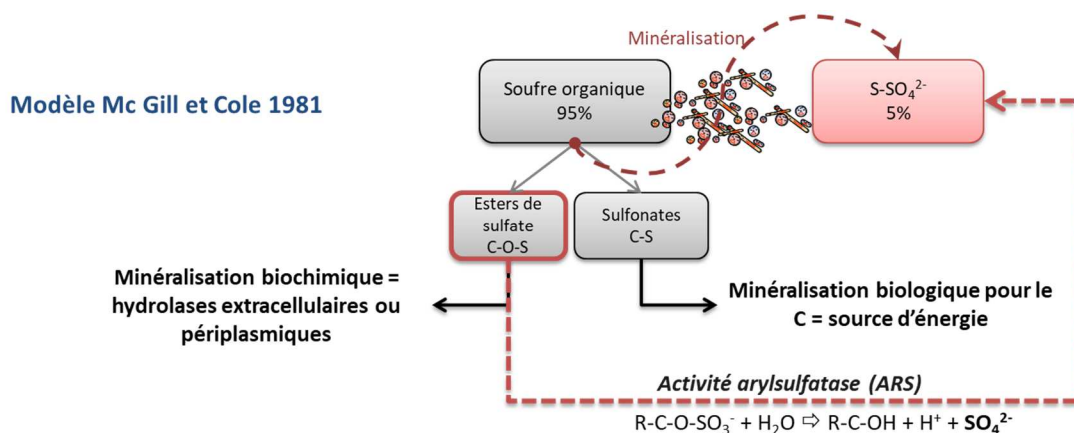


Figure 19 : Modèle proposé par Mc Gill et Cole et modifié pour positionner les deux voies de minéralisation (biologique et biochimique) du S organique dans les sols

Lorsque l'équipe a abordé cet axe de recherche, les communautés microbiennes impliquées dans la dynamique de S, étaient encore considérées comme une "boîte noire". Si l'activité ARS avait été

<sup>5</sup> Le terme immobilisation correspond à l'organisation microbienne c'est-à-dire le processus inverse de la minéralisation correspondant à l'assimilation de S inorganique sous forme organique.

caractérisée chez des espèces bactériennes modèles isolées d'environnements cliniques et susceptibles d'être présentes dans les sols (Kertesz, 2000), nos travaux ont permis d'explorer la diversité taxonomique et fonctionnelle des bactéries du sol possédant cette activité.

Cette caractérisation a nécessité la mise au point de différents outils méthodologiques :

- **Un milieu sélectif gélosé contenant comme seule source de S un ester de sulfate couplé à un chromogène (X-sulf) permettant d'isoler des bactéries possédant l'activité ARS** grâce à la coloration bleue libérée par le clivage de la liaison ester de sulfates (Figure 20),



Figure 20 : Photographie d'un étalement de suspension-dilution sur milieu gélosé ne contenant comme source de S un ester de sulfate couplé à un chromogène (X-sulf). La coloration bleue permet de repérer les souches microbiennes capables d'hydrolyser ce substrat grâce à la présence d'une activité ARS

- Des **amorces moléculaires** permettant d'amplifier un fragment du gène *atsA* codant l'unité catalytique de l'ARS,
- Un **test de quantification de l'activité ARS intracellulaire et extracellulaire en milieu liquide** permettant de suivre l'induction et la localisation de l'activité ARS chez certains isolats.

#### **Question de recherche et hypothèses :**

Ces travaux, centrés sur la caractérisation des acteurs microbiens impliqués dans la minéralisation des esters de sulfate des sols ont eu pour objectif de répondre aux questions suivantes :

- Quelle est la composition taxonomique et fonctionnelle de la communauté bactérienne fonctionnelle ARS <sup>6</sup>? L'hypothèse de ce travail était que le colza, plante dont l'exigence en S est importante, pouvait sélectionner une communauté bactérienne présentant des caractéristiques fonctionnelles (densité, structure et niveau d'activité ARS) différentes de celles mesurées sous orge.
- Est-ce que la limitation en S minéral et/ou la présence d'esters de sulfate régule l'activité ARS de façon différentielle selon les espèces bactériennes ?

La caractérisation de la communauté fonctionnelle ARS s'est appuyée à la fois sur une approche basée sur des isollements de souches bactériennes de la rhizosphère de colza et d'orge et sur une approche indépendante de la cultivabilité (Figure 21).

---

<sup>6</sup> Il s'agit de la communauté microbienne qui possède une activité ARS

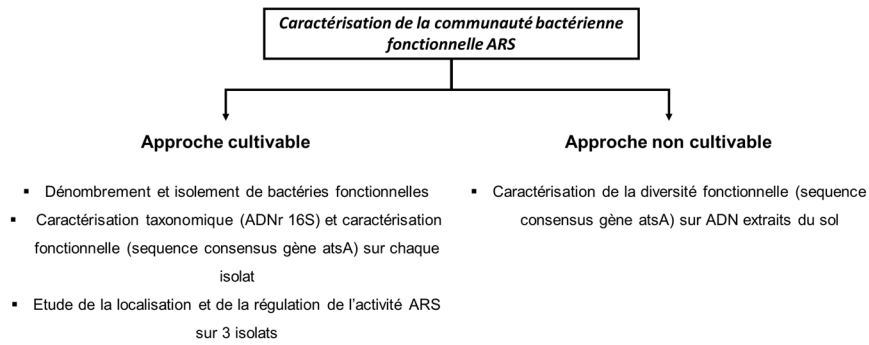


Figure 21 : Les deux approches utilisées en parallèle pour étudier les caractéristiques fonctionnelles de la communauté bactérienne ARS

Elle a été menée sur 2 dispositifs expérimentaux (Martincourt et Epoisses). Seuls les résultats obtenus sur le site de Martincourt sont présentés en détail. Le site de Martincourt a été choisi du fait de l'acquisition antérieures de données relatives aux flux de S par le LAE (Dedourge *et al.*, 2003, 2004, Vong *et al.*, 2003, 2004). Il s'agit d'un sol argilo-calcaire dont les caractéristiques sont les suivantes : MO 3,9%, C org 22,6 g kg<sup>-1</sup>, N org 2,4 g kg<sup>-1</sup>, S org 0,59 g kg<sup>-1</sup>, pH 8,2. Ce sol est caractérisé par un pool de S organique relativement important (Simon-Sylvestre, 1969).

**Les principaux résultats mettent en évidence que :**

- L'activité ARS moyenne mesurée en sol rhizosphérique de colza (81,2 µg p-nitrophénol g<sup>-1</sup> sol sec h<sup>-1</sup>) est significativement plus élevée que celle mesurée sous orge (65,5 µg p-nitrophénol g<sup>-1</sup> sol sec h<sup>-1</sup>). Ceci suggère une activité de minéralisation des esters de sulfate plus intense dans la rhizosphère du colza (Vong *et al.* 2007), plante plus exigeante en S que l'orge. Quel que soit le couvert, l'activité ARS évolue au cours du temps suggérant une influence de la phénologie et des variations de rhizodéposition selon les stades de développement.
- La taille de la communauté bactérienne fonctionnelle est significativement plus importante dans la rhizosphère de colza (log 6,27) que d'orge (log 5,48) et ceci quelle que soit la date de prélèvement (Figure 22, Crégut *et al.*, 2009). Par ailleurs, au cours du temps, des relations linéaires peuvent être mises en évidence entre la taille de la communauté bactérienne fonctionnelle ARS et l'activité ARS dans la rhizosphère du colza (R<sup>2</sup> = 0,43, P < 0,002) et dans la rhizosphère de l'orge (R<sup>2</sup> = 0,24, P < 0,05).

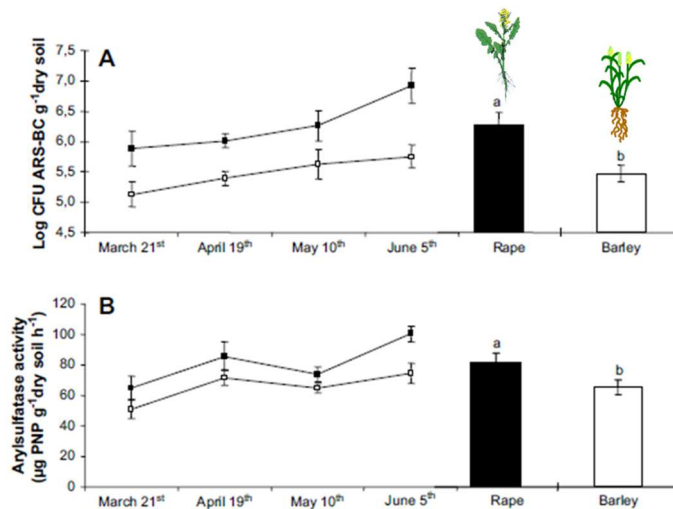


Figure 22 : Evolution de la densité de la communauté bactérienne cultivable fonctionnelle ARS et de l'activité ARS au cours de la phénologie du colza et de l'orge

- La structure de la communauté bactérienne fonctionnelle ARS est différente entre les deux couverts et évolue au cours du temps (Figure 23, Crégut *et al.*, 2009) suggérant à la fois un effet de l'espèce végétale et de la phénologie.

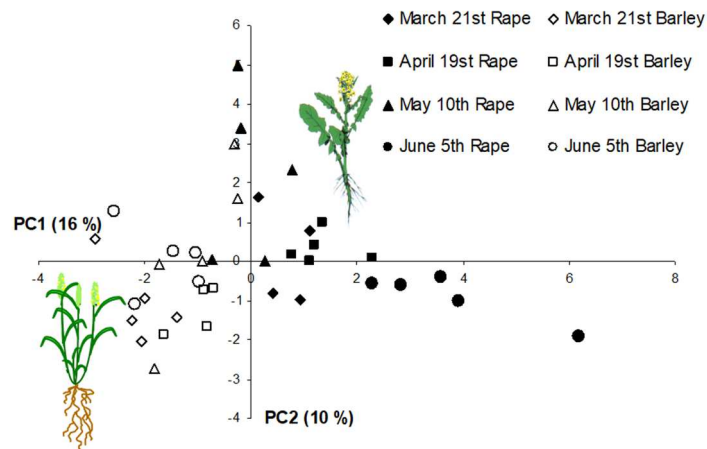


Figure 23 : Comparaison, par Analyse en Composantes Principales, de la structure génétique de la communauté bactérienne fonctionnelle ARS dans la rhizosphère d'orge et de colza, au cours des différents stades de développement des plantes

Le séquençage des ribotypes majoritairement présents sous les 2 couverts a mis en évidence que (i) **sous colza le ribotype majoritairement présent est affilié au genre *Pseudomonas*** (23 % de la diversité au cours de la saison) tandis que **55 % des isolats appartiennent à la famille des Actinobactéries** avec différents genres représentés (11,3 % de *Microbacterium sp.*, 11 % de *Cryobacterium sp.*, 10,2 % de *Rhodococcus sp.*, 9,9 % de *Streptomyces sp.*, 8,8 % d'*Arthrobacter sp.* et 4,6 % de *Nocardia sp.*), (ii) **sous orge, les Actinobactéries représentent environ 70 % de la diversité totale** avec dominance des genres *Arthrobacter sp.* (21,7 %) et *Rhodococcus sp.* (19,5 %), *Nocardia sp.* (16 %) et aux *Streptomyces sp.* (12,3 %). Concernant la caractérisation génétique fonctionnelle, les outils moléculaires, mis au point dans ces travaux, ont permis d'amplifier spécifiquement des séquences du gène *atsA* chez des isolats du sol, qui auparavant n'avaient pas été caractérisées pour cette fonction et ainsi de mettre en évidence **une diversité de séquences fonctionnelles chez des souches bactériennes rhizosphériques affiliées à différentes familles**. Sur les isolats bactériens des dosages d'activité ARS en milieu liquide ont été effectués afin de déterminer la localisation et le niveau de régulation de cette activité selon la présence de S minéral et/ou S organique du milieu. En termes de régulation, les activités ARS bactériennes sont généralement réprimées sur un milieu de croissance contenant des sulfates alors qu'elles sont exprimées sur un milieu ne contenant comme source de S que des composés de nature organique (Dodgson *et al.*, 1982 ; Kertesz *et al.*, 1993). La quantification de l'activité ARS chez *Streptomyces sp.*, *Microbacterium sp.* et *Rhodococcus sp.* a montré que ces isolats ne présentaient une activité ARS que sur les esters de sulfate testées (pNCS ou pNPS) avec des activités significativement plus faibles sur pNPS que sur pNCS. **En ce sens, nos résultats suggèrent une réponse dépendante du substrat** (Cregut *et al.*, 2013). L'étude de la compartimentation cellulaire de cette activité enzymatique a été réalisée après culture sur un milieu minimum contenant comme seule source de S, un ester de sulfates (*p*-NPS à 250  $\mu$ m) et séparation de trois fractions à l'issue de la culture (surnageant de culture = fraction extracellulaire, surnageant après lyse du culot cellulaire = fraction intracellulaire, débris du culot = fraction membranaire). Les résultats mettent en évidence que seule la souche bactérienne affiliée à *Streptomyces* présente à la fois une activité ARS dans les fractions intracellulaire et membranaire. Par contre, pour les souches affiliées à *Microbacterium* et *Rhodococcus*, l'activité ARS n'a pu être détectée que dans la fraction membranaire (Cregut *et al.*, 2013). **Ces résultats ont permis d'améliorer notre compréhension de la régulation de la synthèse de cette enzyme qui jusqu'alors**

**n'était connue que pour être une protéine soluble cytosolique ou localisée dans le périplasme chez *Klebsiella pneumoniae* (Kertesz, 1999).**

Nous avons mobilisé cette banque de souches bactériennes issues de la rhizosphère de colza et d'orge afin de mettre en évidence **d'autres propriétés fonctionnelles susceptibles d'être intéressantes pour des applications en tant qu'inoculants microbiens en agriculture**. Ces souches ont été caractérisées fonctionnellement à l'aide de bio-tests *in vitro* afin d'évaluer i) leurs aptitudes à minéraliser les principales formes organiques d'N en plus du S dans les sols ii) à produire des phytohormones susceptibles d'influencer la croissance racinaire des plantes et leur capacité à intercepter les éléments minéraux. Ceci nous a permis d'identifier deux souches bactériennes affiliées aux genres *Pseudomonas* et *Microbacterium* qui présentent des potentialités de biostimulation intéressantes. Nous avons ensuite mis en place des expérimentations en microcosmes de sol et en conditions contrôlées sur maïs. **Ces expérimentations ont montré que les 2 souches bactériennes sélectionnées permettent d'augmenter les activités enzymatiques microbiennes du sol telles que les activités protéases (+ 40 à 50%) et les activités ARS (+ 60 à 100%)**. De manière intéressante, la stimulation des activités microbiennes du sol s'accompagne d'une augmentation significative de la disponibilité en nitrates (+ 11 à 18%) et dans une moindre mesure en sulfates (+ 4%) du sol. La souche affiliée à *Pseudomonas* influence par ailleurs la croissance et le développement racinaire du maïs, en augmentant de près de 60% la longueur et la surface des racines fines (> 0,2 mm) qui sont les racines fonctionnellement les plus importantes pour le prélèvement des éléments nutritifs. Ces travaux, soutenus depuis 2018 par la Région Grand Est et l'Université de Lorraine, ont abouti à **deux brevets nationaux correspondant aux deux souches identifiées (FR 18 73596 et FR 18 73624) pour lesquels une extension à l'international va être demandée**. L'homologation puis la mise en marché de ces souches seront réalisées dans le cadre d'un projet de maturation mené avec la SATT SAYENS et un partenaire industriel (confidentiel). Le marché ciblé est celui des biostimulants pour lequel les produits sont soumis à l'homologation Matières Fertilisantes et Supports de Culture (MFSC). L'objectif de la maturation qui est prévue jusqu'à fin 2021 est d'une part de démontrer que les souches peuvent être produites à l'échelle industrielle sous un conditionnement viable et stable. D'autre part, les souches pouvant répondre différemment selon le type de sol et de culture, des essais en conditions contrôlées doivent permettre de valider les modalités application : dose, culture, type de sol et la synergie possible des deux souches. La confidentialité de ce projet de maturation ne permet pas pour le moment de décrire plus largement les résultats. **Néanmoins, en comparaison des solutions existantes actuellement sur le marché, les deux souches bactériennes présentent les innovations suivantes :**

- **capacité de minéralisation à la fois de composés organiques azotés et soufrés présents dans les MOS**
- **amélioration du développement racinaire**
- **application large en termes de plantes cibles**
- **formulation envisageable avec supports de culture ou autres bio-intrants (digestats, biochars, compost).**

### 3.2.2.3- Les effets du C sur les flux de minéralisation et d'immobilisation de S (question 3, figure 16)

La minéralisation du S dans les sols est extrêmement variable et peu d'informations sont disponibles sur les quantités de sulfates issues des flux nets de minéralisation. D'après Simon-Sylvestre (1972), la vitesse de minéralisation nette de S est supérieure à celle de N dans les sols agricoles. Néanmoins, cette minéralisation annuelle nette (de 1,7 à 3,1%) libère au maximum des quantités de l'ordre de 30 kg de S-sulfates ce qui contribue peu à la fourniture en sulfates pour les plantes et ne peut corriger à elle seule les éventuelles carences chez les plantes exigeantes (Eriksen, 1994). **Si la réserve en S organique est importante, le problème de limitation vient essentiellement d'une mauvaise adéquation entre l'offre et la demande au moment de la reprise de végétation des plantes au printemps du fait de processus de minéralisation décalés par rapport à la croissance**. L'activité ARS



est souvent évoquée comme un marqueur de minéralisation du S dans les sols. Cette dernière est notamment corrélée positivement avec la teneur en C organique du sol (Tabatabai et Bremner, 1970), suggérant que le C est un des effecteurs majeurs de la dynamique de S des sols, d'autant plus que les micro-organismes du sol sont majoritairement hétérotrophes. Dans ce contexte, Knights *et al.*, (2001) ont démontré que la disponibilité en substrats carbonés était un facteur clé dans la régulation des flux de S, notamment dans l'immobilisation. De plus, les apports de C en créant des conditions favorables à l'augmentation de la biomasse peuvent induire une limitation en S pour les communautés microbiennes ayant pour résultante une diminution de la minéralisation du C (Chapman, 1997). **Par conséquent, le couplage C/S est donc essentiel à considérer au même titre que le couplage C/N lorsque l'on aborde les processus de minéralisation de S.** A l'échelle de l'écosystème, l'apport de C organique augmente à long terme le taux de minéralisation du S organique suggérant que le turn-over de S dans le sol est orienté par le cycle du C (Knights *et al.*, 2001).

**Les principales sources de C dans le sol sont (i) les rhizodépôts issus de l'activité des racines vivantes, (ii) les résidus de cultures restitués au sol après récolte du précédent, (iii) les effluents d'élevage, boues de stations d'épuration...** Ces apports de composés carbonés sont à l'origine d'une hétérogénéité du sol conduisant à l'identification de "hot spots" ou "zones de haute activité biologique". La rhizosphère (zone sous influence des racines vivantes) et la résidusphère (zone du sol sous l'influence des résidus de culture) constituent deux "hot spots" essentiels dans le fonctionnement des agrosystèmes et notamment dans la dynamique de S. La minéralisation de S est ainsi plus importante dans la rhizosphère que dans le sol nu suggérant un rôle important du C racinaire dans le déterminisme des activités des communautés microbiennes fonctionnelles (Vong *et al.*, 2007). Par ailleurs, les apports de résidus dans le sol peuvent conduire à une immobilisation nette de S notamment dans la biomasse microbienne (Wu *et al.*, 1993) induisant une diminution temporaire de la teneur en sulfates disponibles du sol (Bhupinderpal-Singh *et al.*, 2006) et donc une limitation des pertes par lixiviation (Diot, 1991). Les composés organiques soufrés d'origine microbienne seraient plus labiles et de ce fait seraient susceptibles d'être minéralisés plus rapidement que le S organique stabilisé dans la MO indigène (Ghani *et al.*, 1993). Aussi, plus la quantité de S immobilisé dans biomasse microbienne est importante, meilleure sera la disponibilité de S pour la plante (Gupta *et al.*, 1988). Or l'amplitude de ce processus d'immobilisation de S dépend du type de MO et notamment du rapport C/S de cette dernière. De façon générale, un C/S inférieur à 200 est à l'origine d'une minéralisation nette alors qu'un C/S supérieur à 400 est à l'origine d'une immobilisation nette (Eriksen *et al.*, 1998). **Si la nature du C est essentielle dans l'orientation des flux de S (Wu *et al.*, 1993), son rôle sur les communautés microbiennes impliquées dans le cycle interne de S, et notamment celles possédant l'activité ARS, n'avait pas été abordé dans la littérature.**

#### **Question de recherche et hypothèses :**

**Ces travaux ont donc eu pour objectif de mieux comprendre les effets de la quantité et de la nature du C sur les communautés microbiennes impliquées dans la minéralisation des esters de sulfate des sols et la résultante en termes de flux bruts et nets de S.** Du fait du peu de travaux sur les micro-organismes impliqués dans les flux de S, l'hypothèse selon laquelle le C activerait la communauté fonctionnelle, d'autant plus que S devient limitant dans le milieu, n'avait pas encore été directement testée. **De plus, peu de travaux faisaient état de l'étude des dynamiques couplées du C, de l'N et du S dans les sols agricoles.** Pour valider cette hypothèse nous avons notamment initié une collaboration en 2005 avec les collègues de l'INRA de Laon/Reims (Sylvie Recous et JM Machet) de façon à mettre en complémentarité leur savoir-faire sur la caractérisation des résidus de cultures et le couplage des cycles C et N et celui du LAE sur le suivi des communautés fonctionnelles possédant l'activité ARS et l'utilisation d'isotopes radioactifs pour déterminer les flux bruts de S. Nous avons choisi de travailler sur le compartiment résidusphère en absence de la plante afin de ne paramétrer que l'interaction résidus-communautés microbiennes indépendamment des prélèvements de S et de la rhizodéposition liés au fonctionnement de la plante. Nous avons ainsi étudié les effets de la nature (glucose vs résidus de culture) et de la quantité de C (entre 0 et 4 mg C kg<sup>-1</sup> sol) sur les communautés microbiennes possédant l'activité ARS et la résultante en termes de flux de minéralisation nette de C, N et S.

Cette collaboration avec les collègues de l'INRA de Laon/Reims s'est inscrite dans le cadre du doctorat d'Hamid Niknahad-Gharmakher et du Master 2 de Muhammad Usman.

Elle a eu deux objectifs principaux :

- i. **Tester l'impact de l'incorporation de blé en différentes quantités (variation du rapport C / S du sol) sur l'activité ARS et les flux de minéralisation de S.** L'hypothèse était que l'incorporation de résidus de blé, tout en créant des conditions favorables augmenter la biomasse microbienne, pourrait induire une limitation du S pour les communautés microbiennes (autant plus que le rapport C/S du sol augmente) et stimuler ainsi une minéralisation rapide du S *via* l'activité ARS afin de répondre aux exigences de S pour la biomasse microbienne. Des incubations de sol amendés avec des quantités de résidus de blé croissantes (0, 2, 3 et 4 g C kg<sup>-1</sup> sol) et un témoin glucose (4 g C kg<sup>-1</sup> sol) ont été réalisées en conditions contrôlées. A différents temps de la cinétique (entre 0 et 56 jours), des suivis d'abondance des communautés microbiennes fonctionnelles ARS, d'activité ARS et des mesures de flux S ont été réalisés.
- ii. **Tester en conditions non limitantes en S l'impact de l'incorporation de différents résidus (tiges de blé à maturité, fétuque, moutarde...) sur la relation (i) entre la minéralisation de S et la décomposition du C des résidus et (ii) entre l'abondance des communauté microbienne ARS et cette activité dans les sols ainsi que la résultante en termes de flux nets de S.** Les résidus choisis variaient à la fois selon leur composition biochimique (fractions solubles C et S, hémicellulose, cellulose et lignine) et leur teneur en S (C/S compris entre 60 et 486). L'hypothèse testée était que le C issu des résidus incorporés dans le sol pouvait augmenter la taille de la communauté de la communauté microbienne et induire l'activité ARS d'autant plus si la teneur en C était forte et la teneur S (essentiellement sous forme sulfate) était limitante (Figure 24). Des incubations de sol amendé avec différents résidus de culture (1,5 g C kg<sup>-1</sup> sol et C/S compris entre 60 et 486) ont été réalisées en conditions contrôlées. A différents temps de la cinétique (entre 0 et 156 jours), des suivis d'abondance des communautés microbiennes fonctionnelles ARS, d'activité ARS et des mesures de flux S ont été réalisés.

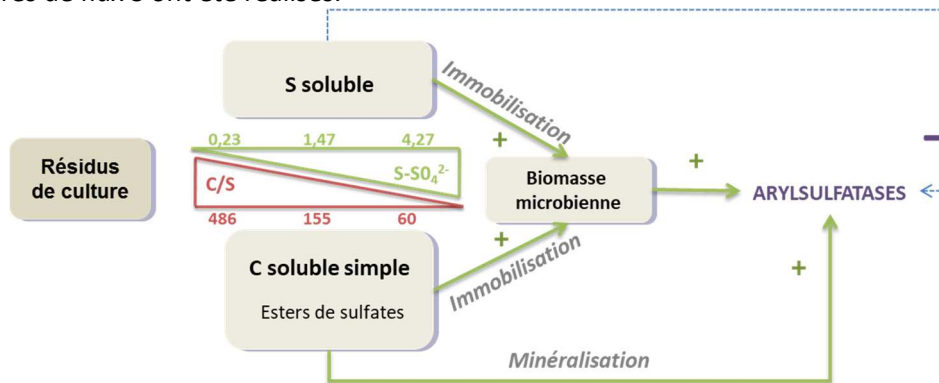


Figure 24 : Hypothèses relatives aux effets de résidus de culture présentant des compositions biochimiques et des ratio C/S différents sur l'activité ARS

**Principaux résultats :**

Objectif 1

- Les résultats montrent que **dans le cas du glucose la minéralisation rapide de cette source de C par les micro-organismes est à l'origine d'une forte augmentation de la biomasse microbienne (Figure 25A) se traduisant par une rapide (maximale à 3 jours, 56 mg S) mais transitoire, immobilisation de S.** Dans le cas de résidus de blé, la valeur maximale d'immobilisation de S est atteinte après 7 jours (avec des valeurs d'autant plus grandes que le C/S augmente, 28 mg de S pour la dose la plus forte de blé) et reste constante jusqu'à 56 jours du fait d'une minéralisation lente du résidu en comparaison avec le traitement glucose (Figure 25B). **Le ratio entre la biomasse microbienne carbonée et le S immobilisé est ainsi de 24 mg de S pour le glucose contre 7 mg de S pour l'équivalent C sous forme de résidus de blé, suggérant une immobilisation plus forte par**

**unité de biomasse microbienne dans le cas du blé** (Chapman, 1997, Chowdhury *et al.*, 2000). Cette augmentation d'immobilisation de S dans la biomasse microbienne crée une limitation en S du sol et une induction très significative de l'activité ARS (103  $\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$  à 3 jours pour le traitement glucose contre 62  $\mu\text{g g}^{-1} \text{h}^{-1}$  à 7 jours pour le traitement blé) (Figure 25C).

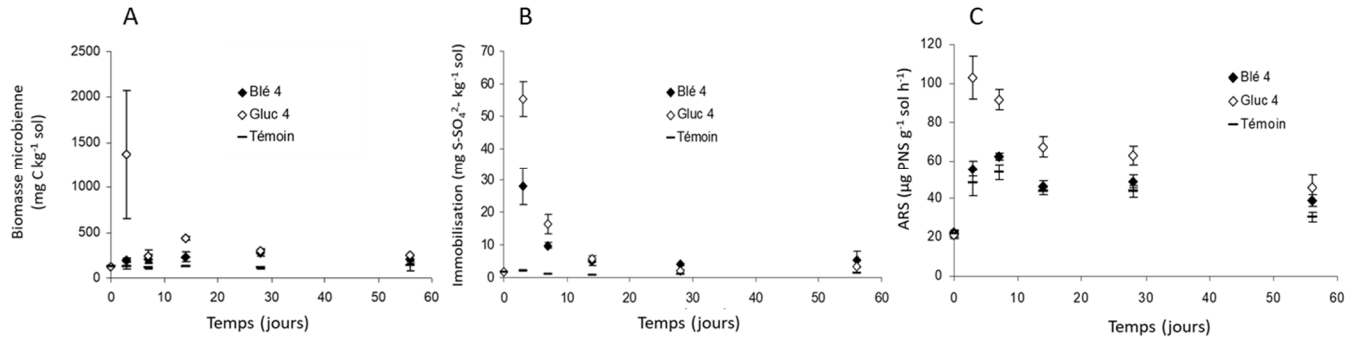


Figure 25 : Evolution temporelle de la biomasse microbienne carbonée (A), de l'immobilisation de S (B) et de l'activité ARS (C) dans des sols amendés avec des résidus de blé (4g équivalent C kg<sup>-1</sup> de sol) ou du glucose (4g équivalent C kg<sup>-1</sup> de sol). Le témoin correspond au sol non amendé.

Objectif 2 :

- **Les résultats montrent que le rapport C/S des résidus de culture est un indicateur prédictif de la capacité à libérer du soufre minéral lors de leur décomposition (i.e. minéralisation nette).** La moutarde et la fétuque en raison de leur teneur initiale élevée en S total et en sulfate permettent une minéralisation nette positive, tandis que pour les résidus à fort C/S (blé et hêtre), une immobilisation nette est mise en évidence (Figure 26).

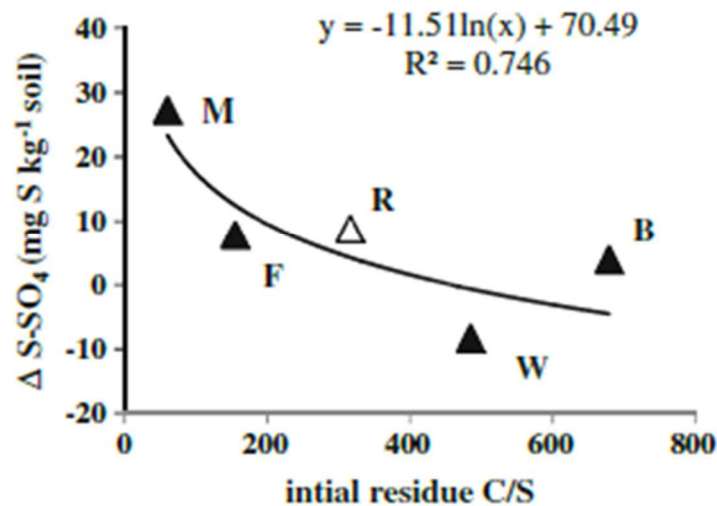


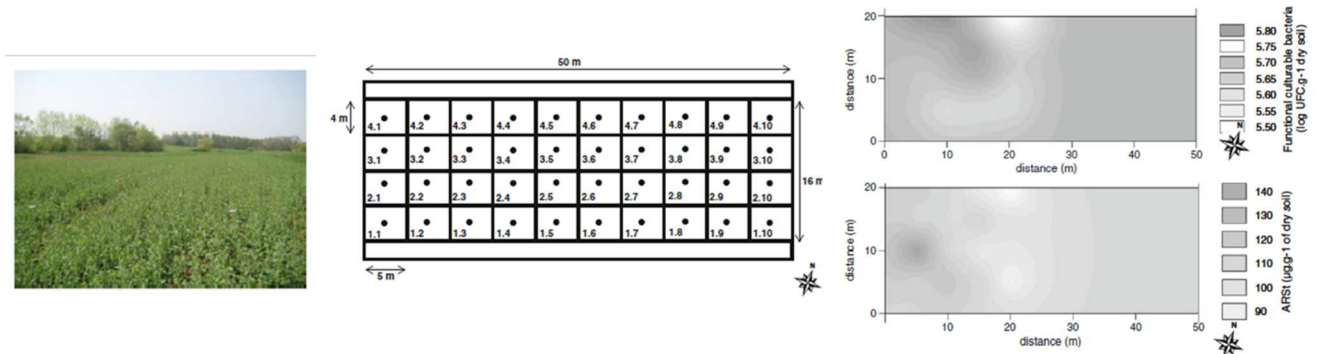
Figure 26 : Relation entre l'accumulation nette de sulfate dans le sol, calculé 168 jours après le début de l'incubation et le rapport C/S initial du résidu. L'accumulation nette a été calculée comme la différence entre la teneur en S extractible du résidu et le sol témoin pour les résidus de moutarde (M), fétuque (F), blé (W) et hêtre (B).

Ces résultats sont en accord avec les résultats d'autres auteurs qui montrent une libération nette de sulfate pour des C/S inférieure à 200 (Barrow 1960; Wu *et al.*, 1995). **Néanmoins, nous avons montré que dans le cas de résidus comme la moutarde ou la fétuque, la libération immédiate de S soluble est suivie d'une immobilisation très rapide et forte au cours de leur décomposition ce qui n'avait**

**jamais été rapporté dans la littérature** (Niknahad-Gharmakher *et al.*, 2012). Parmi les micro-organismes du sol, la densité de la communauté bactérienne ARS a ainsi été augmentée de 289% et de 145% respectivement pour la moutarde et la féтуque par rapport au témoin sans induction significative de l'activité ARS du fait d'une concentration initiale en sulfates du sol (20 mg kg sol sec) trop élevée pour créer des effets de limitation en S pour les micro-organismes (Piutti *et al.*, 2015).

### 3.2.2.4- Variabilité spatio-temporelle de l'activité ARS à l'échelle de la parcelle agricole (question 4, *figure 16*)

Comme l'ont montré les travaux précédemment décrits, en conditions contrôlées sur souches microbiennes modèles ou sur échantillons de sol incubés, l'activité ARS peut être influencée par (i) la disponibilité en sulfates, (ii) la présence de composés organiques soufrés (esters de sulfate), (iii) la quantité/qualité du C présent dans le sol. **Si les expérimentations au laboratoire sont essentielles pour améliorer nos connaissances concernant la régulation de l'activité ARS, ces dernières ne sont pas suffisantes pour appréhender la gestion du S à l'échelle du cycle cultural des espèces cultivées.** Les processus microbiens dans les sols sont en effet aussi contrôlés par des facteurs comme la teneur en MO, l'humidité, la texture, le pH qui présentent une variabilité spatiale (Griffiths, 1994; Robertson et Freckman, 1995; Shouse *et al.*, 1995). L'activité ARS d'origine microbienne pourrait au même titre que certaines activités microbiennes (El Sebai *et al.*, 2007) et/ou certains paramètres physico-chimiques du sol (Grundmann, 1990), présenter une hétérogénéité spatiale et/ou temporelle. Nous avons donc voulu évaluer (i) la variabilité spatiale et temporelle de l'activité ARS sous couvert de colza (*Figure 27*), (ii) si cette variabilité était liée aux évolutions de taille de la communauté fonctionnelle ARS et/ou à d'autres paramètres physico-chimiques et biologiques. **Les principaux résultats montrent que la distribution de la densité de la communauté bactérienne ARS et de l'activité ARS diffèrent spatialement (*Figure 27*, droite). Le patron spatial de l'activité ARS au champ est corrélé avec les propriétés du sol notamment le pH, le C et l'N labile mais pas avec la taille de la communauté fonctionnelle ARS ni la teneur en sulfates (Goux *et al.*, 2012).**



*Figure 27 : Dispositif expérimental et principaux résultats*

*Gauche : Photographie de la parcelle d'essai*

*Centre : Représentation du quadrillage effectué sur la parcelle de colza ( • : point du prélèvement de sol ; x.y : code de l'échantillon de sol)*

*Droite : Cartes de krigeage pour les variables taille de la communauté microbienne ARS et activité ARS.*

**Caractère innovant de ces travaux et retombées potentielles**

Ces travaux ont été centrés sur l'étude de la minéralisation du S, élément indispensable pour la croissance des plantes mais peu abordé dans la communauté scientifique contrairement à d'autres éléments limitants comme l'azote et le phosphore. La mise au point d'un milieu ne contenant que pour unique source de S un ester de sulfate, substrat de l'activité ARS a permis d'isoler et de caractériser à la fois du point de vue taxonomique et fonctionnel des bactéries avec des potentialités de minéralisation du S organique des sols. La caractérisation de cette communauté bactérienne fonctionnelle a été abordée en couplage avec des suivis d'activité potentielle ARS dans les sols de façon à cerner l'impact du type de sols, de l'espèce végétale, de la phénologie sur la taille et l'activité de cette dernière. Le design d'outils moléculaires ciblé sur une partie de la séquence du gène fonctionnel (*atsA*) codant pour l'ARS a permis de caractériser la diversité des séquences sur les isolats mais aussi directement sur le sol par des approches de clonage-séquençage. Malheureusement, il n'a pas été possible d'aboutir à des outils moléculaires permettant de suivre par des approches de PCR en temps réel cette communauté fonctionnelle. Aussi, le suivi couplé de la taille de la communauté bactérienne fonctionnelle et des flux de minéralisation de S comme cela avait pu être le cas lors de mon doctorat pour l'atrazine n'a pu être réalisé.

Néanmoins, les résultats obtenus par des approches de microbiologie pasteurienne ont permis de :

(i) **constituer une banque de souches bactériennes possédant l'activité ARS permettant de disposer actuellement de candidates potentielles dans un contexte de développement d'inoculants en agriculture pour substituer en partie les engrais soufrés de synthèse.**

(ii) mettre en évidence que les plantes peuvent moduler au cours de leur croissance (via l'activité racinaire) la taille et l'activité de la communauté bactérienne ARS. **Ce résultat suggère que les traits racinaires des plantes pourraient notamment être impliqués dans cette modulation.**

(iii) mettre en évidence un effet du C des résidus de culture (effet précédent cultural) sur la dynamique des communautés microbiennes possédant l'activité ARS et la résultante en termes de flux nets. **La corrélation observée entre la dynamique de S et la biomasse microbienne dont la communauté bactérienne ARS soutient l'hypothèse que le principal mécanisme d'intégration dans la MO du sol du S contenus dans les résidus de culture se fait *via* le métabolisme microbien comme pour l'N.** Du fait du couplage des cycles C et S, le niveau d'immobilisation microbienne de S et le recyclage est déterminé à la fois par la quantité de S apporté par les résidus, la disponibilité de la source de C pour les micro-organismes et la teneur initiale en sulfates du sol. Le C conduit à une immobilisation nette de S, notamment dans la biomasse microbienne dont la communauté fonctionnelle ARS sans induction d'activité ARS du fait d'une trop faible limitation en sulfates du milieu. Si les apports d'engrais minéraux n'influencent que peu le cycle de S des sols, et ainsi la fertilité soufrée des agrosystèmes (Bünemann *et al.*, 2006), nos résultats montrent que la quantité ainsi que la nature du C apporté dans le sol *via* les résidus de culture est essentielle à prendre en compte pour la prédiction des flux de S dans les sols agricoles. **L'effet du précédent cultural suggère ainsi que le choix de la succession des cultures (i.e. rotation) est un levier essentiel à prendre en compte pour le recyclage efficient du S dans les systèmes de culture.**

(iv) mettre en évidence une variabilité spatiale et temporelle de l'activité ARS à l'échelle de la parcelle agricole suggérant **l'importance de prendre en compte l'effet des filtres environnementaux (liés au pédoclimat) sur l'expression de la fonction de minéralisation du S.**

**Ces travaux de recherche ont été au cœur du doctorat de Mickael Cregut et de différents stagiaires. Ils ont donné lieu à 6 publications scientifiques sur la période 2009-2015 dont 2 publications scientifiques en collaboration avec les collègues de l'UMR FARE Reims et de l'UR Agroimpact Laon.**

### 3.2.3-La diversité végétale et les pratiques agricoles, des filtres susceptibles de moduler les communautés microbiennes impliquées dans la décomposition des MOS et d'améliorer la fourniture en N et S pour les plantes ?

#### **Préambule :**

En mai 2011 suite à la dissolution de l'équipe Rhizosphère, j'ai intégré l'équipe Agriculture Durable (aujourd'hui AGISEM) dans le but de développer un projet scientifique centré sur les relations entre pratiques agricoles – diversité microbienne des sols – SE rendus par cette diversité microbienne. Cette transition a été facilitée par l'obtention d'un CRCT de 6 mois en 2013-2014. Le SE que j'étudie dans le cadre de mes activités actuelles de recherche est un service de régulation correspondant à la capacité des sols à libérer des éléments minéraux (notamment N et S) indispensables à la croissance des plantes cultivées dans le contexte de l'intensification écologique des systèmes de production agricole. Ce service de régulation s'intègre en partie dans la notion de **fertilité des sols** et dans le cadre de mes recherches, il est appréhendé au travers de la mesure du potentiel de minéralisation de N et S des sols.

#### 3.2.3.1- Eléments contextuels et cadre conceptuel de recherche sur l'effet des systèmes de culture sur les indicateurs microbiens des sols en lien avec la fertilité des sols

**Les travaux que j'ai pu mener au préalable sur le cycle du S ont mis en évidence que la minéralisation des composés organiques soufrés est réalisée par des communautés microbiennes dont l'activité est modulée par des facteurs biotiques (exigences des plantes en S, caractéristiques de rhizodéposition liés aux traits racinaires, qualité des résidus de culture) et abiotiques (conditions pédoclimatiques).** Ces résultats obtenus en conditions contrôlées et à l'échelle parcellaire nécessitent d'être extrapolés à l'échelle des systèmes de culture. La notion de systèmes de culture englobe la diversité végétale planifiée organisée temporellement dans une rotation culturale ainsi que les interventions techniques réalisées sur chaque culture. Dans le contexte de l'intensification écologique des systèmes de culture, la substitution des intrants chimiques et notamment des engrais de synthèse par les processus écologiques nécessite au préalable **une meilleure compréhension (i) des fonctions réalisées par la diversité biologique des sols** sous l'action des composantes physiques et chimiques, (ii) **de l'impact des systèmes de culture (diversité végétale et pratiques agricoles) sur la diversité, les fonctions et le niveau de réalisation du service de régulation étudié.** En sortie, ces recherches doivent contribuer au développement d'outils d'évaluation opérationnels de type indicateurs pour l'aide à la décision (Carpenter *et al.*, 2006).

**La première étape de ces recherches a été de définir la fertilité dans le contexte d'évolution des systèmes agricoles de façon ensuite à pouvoir positionner les enjeux actuels existant autour de la gestion de la fertilité dans le contexte de l'intensification écologique.** La notion de fertilité des sols est utilisée depuis très longtemps par les agriculteurs et les agronomes. La recherche de définition précise de ce terme communément utilisée depuis plusieurs siècles laisse apparaître que cette notion appartient plus au langage courant que scientifique (pour revue, Patzel *et al.*, 2000). La notion de fertilité reste actuellement encore floue correspond souvent pour les agronomes à "un jugement global de valeur sur la qualité d'un milieu nécessaire à la satisfaction de la production végétale". Néanmoins depuis une trentaine d'années, différents chercheurs travaillant sur cette notion ont tenté de définir de façon objective ce concept (*Tableau 8*, pour revue Piutti *et al.*, 2015).



Tableau 8 : Exemples de définitions de la fertilité des sols

Définition	Référence	Commentaires
"The capacity of soil to produce the crop desired"	COOKE, 1967	La notion de fertilité est liée à la capacité de production
"de tous temps la fertilité des sols a été une préoccupation liée à la mise en valeur par l'homme du milieu naturel et à son exploitation pour satisfaire certaines de ses besoins"	SEBILLOTE, 1989	La notion de fertilité reste floue et appartient plus au langage courant que scientifique.
"the ability of the land to produce and reproduce; its capacity to support the growth of plants over time, under given climate and other relevant conditions"	INGRAM, 1990	Prise en compte des conditions environnementales
"facilité avec laquelle, pendant toute la durée de la culture, le système racinaire peut bénéficier à partir de ce sol en quantités suffisantes et au moment opportun des différents facteurs de la croissance végétale (chaleur, eau, éléments minéraux, matière organique,) et avoir une croissance suffisante pour prospector de nouvelles zones du sol non appauvries"	MOREL, 1996	La notion de fertilité est centrée sur les conditions qui favorisent la croissance et l'activité du système racinaire.
"la capacité du sol à assurer durablement la productivité primaire d'un écosystème"	TRICHET et al., 1999.	Ecosystème forestier Approche temporelle de la fertilité
"A fertile soil provides essential nutrients for crop plant growth, supports a diverse and active biotic community, exhibits a typical soil structure, and allows for an undisturbed decomposition"	MADER et al., 2002	Cette définition correspond à celle sur laquelle s'appuient les systèmes en agriculture biologique.
"the capacity of soil to provide physical, chemical and biological requirements for growth of plants for productivity, reproduction and quality (considered in terms of human and animal wellbeing for plants used as either food or fodder) relevant to plant type, soil type, land use and climatic conditions".	ABBOTT et MURPHY, 2003	La notion de fertilité s'apparente à la notion de qualité des sols avec les composantes chimique, physique et biologique

Fonte *et al.* (2012) utilisent une définition intégrée de la fertilité des sols qui considère aussi bien la disponibilité des nutriments que le fonctionnement du sol et les SE qu'il fournit. **Dans cette définition, la fertilité ne doit pas être réduite à une quantification du pool d'éléments minéraux assimilables par les plantes indépendamment de la prise en compte des processus contribuant à l'évolution de la taille de ce compartiment. Ces processus correspondent à la capacité intrinsèque du sol à fournir des éléments minéraux *via* une optimisation, au travers du fonctionnement microbien, du recyclage interne des éléments entre les pools organiques et inorganiques** (Drinkwater et Snapp, 2007). **Cette capacité s'appuie notamment sur les MOS qui constituent le réservoir principal d'éléments minéraux et les microorganismes du sol qui sont à la fois une fraction de ces MOS et les acteurs clef de la dynamique de recyclage de ces dernières.** Les MOS constituent le pilier de la fertilité des sols.

Les micro-organismes du sol peuvent influencer la fertilité des sols de façon directe en améliorant la nutrition des plantes *via* les associations symbiotiques (fixation d'azote biologique, solubilisation du phosphore de la roche mère et des MOS) et de façon indirecte en modifiant le niveau de biodisponibilité des éléments minéraux *via* les processus de recyclage de la MOS. La teneur en MOS dépend à la fois des quantités de C organique restituées au sol (*i.e.* entrées) et de la vitesse de décomposition de ce C (*i.e.* les sorties). La simplification des systèmes de culture accompagnée de pratiques agricoles basées sur l'intensification de l'utilisation d'engrais minéraux de synthèse en substitution du recyclage des effluents d'élevage et du travail des sols a conduit à des modifications des teneurs et qualités de MOS (Balesdent, 1996). **La connaissance des MOS tant du point de vue de leur nature chimique que de la temporalité de leur devenir dans les sols en interaction avec les caractéristiques des communautés microbiennes reste encore difficile à appréhender.** Elles correspondent à un pool de molécules plus ou moins complexes d'origine diverse (résidus végétaux ou animaux, composés issus du métabolisme microbien) (Lehmann et Kleber, 2015). Ces molécules peuvent interagir avec la phase minérale du sol pour conduire à des mécanismes de stabilisation (chimique, physique, biochimique) différents selon les propriétés de la phase minérale (teneur et type d'argiles) et la structure chimique des MOS (Six *et al.*, 2002). L'existence de pools de C présentant des temps de résidence plus ou moins long dans les sols serait liée à l'existence de ce gradient de complexation. Celle-ci agirait comme une protection contre la dégradation par les micro-organismes

du sol (Kleber, 2010). Pour appréhender ces aspects, les MOS peuvent être caractérisées notamment par des méthodes de fractionnement qui visent à déterminer la taille et la réactivité des différentes fractions (Von Lützow *et al.*, 2007). Le principe est basé sur le fait que les pools de MOS associés à des particules de taille et nature différentes diffèrent en terme structure et fonction. Le fractionnement densitométrique permet ainsi de distinguer 3 fractions, (i) une fraction libre correspondant aux MOS présentes entre les agrégats (FR-SOM), (ii) une fraction intra-agrégats (IA-SOM) qui comprend notamment une grande proportion de composés microbiens, (iii) une fraction résiduelle organo-minérale plus lourde. En termes de stabilité, le classement est le suivant : fraction organo-minérale > IA-SOM > FR-SOM (Sohi *et al.*, 2005). En France la méthode de fractionnement de référence (norme AFNOR) consiste à séparer la fraction stable (< 50 µm) de la fraction labile (> 50 µm) par tamisage (i.e. fractionnement par granulométrie) (Gavinelli *et al.*, 1995). Les études de fractionnement de MOS mettent notamment en évidence, selon la taille des agrégats de sol considérés, différents pools de MOS interagissant de manière plus ou moins importante avec la phase minérale (Kögel-Knabner *et al.*, 2008). Cette hétérogénéité des MOS varie notamment selon la texture (Plante *et al.*, 2006) et le mode d'occupation des sols (Accoe *et al.*, 2002). **Cette distinction est importante car la vitesse de minéralisation des éléments comme N et S dans les sols va dépendre des fractions de MOS considérées.**

Pour répondre à leurs besoins nutritifs, les communautés microbiennes du sol synthétisent plusieurs classes d'enzymes qui participent à la décomposition/minéralisation des MOS (Moorhead et Sinsabaugh, 2000 ; Schimel et Weintraub, 2003). Ces enzymes peuvent être intracellulaires ou extracellulaires. Les enzymes extracellulaires peuvent être adsorbées sur le sol notamment sur la phase minérale (principalement des argiles) ou libres dans la solution du sol. **Le niveau de synthèse, le temps de résidence dans le sol et la diversité de ces enzymes dépendent de l'abondance et des caractéristiques fonctionnelles des communautés microbiennes dont elles sont issues, mais également de facteurs abiotiques du sol tels que la teneur en C organique, le pH, la texture, l'humidité et la température** (Hendriksen *et al.*, 2016 ; Sinsabaugh *et al.*, 2008). Ce pool d'enzymes, qui représente le potentiel du sol à transformer le continuum de MOS, peut être évalué par des mesures d'activités enzymatiques potentielles. La capacité des sols à libérer des éléments minéraux à moyen et long terme est fortement conditionnée par les fractions les plus accessibles de MOS, en particulier les MOS dissoutes et extractibles (Sinsabaugh, 1994, Cookson *et al.*, 2007). Ces pools de MOS résultent de la première étape de décomposition des MOS stabilisées du sol à savoir le processus de dépolymérisation, généralement considéré comme limitant (*Figure 28*). La résultante nette en termes de fourniture en éléments minéraux pour les plantes (i.e. taux de minéralisation nette) dépend alors de l'équilibre entre les processus de minéralisation (transformation des constituants organiques en constituants minéraux) et d'immobilisation (assimilation des éléments minéraux par les micro-organismes conduisant à la formation de constituants organiques dans la biomasse microbienne).

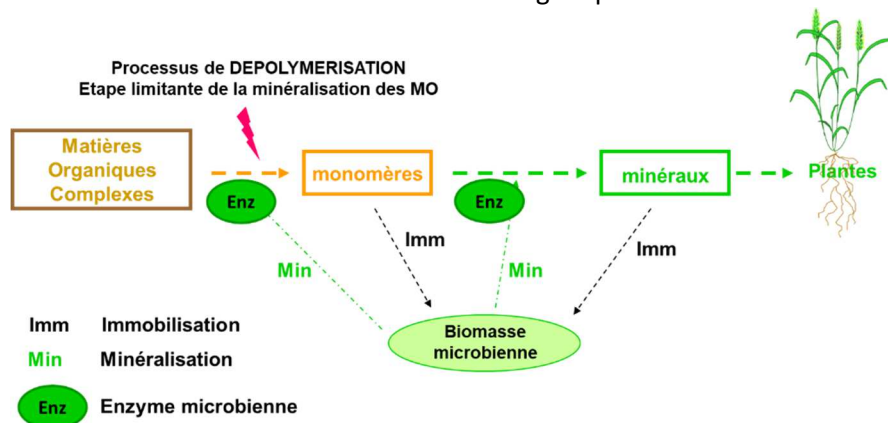


Figure 28 : Etapes de décomposition des MOS (d'après Cookson *et al.*, 2007)

La fertilité résulte ainsi d'un ensemble de fonctions biologiques conditionnées par des facteurs physiques (structure du sol...) et chimiques (teneur et qualité des MOS, pH...), permettant d'influencer la dynamique des MOS et de ce fait les quantités de nutriments mises à disposition de la plante (Stockdale *et al.*, 2002; Marschner et Kalbitz, 2003). Le terme fonction est souvent utilisé en écologie mais sa signification est souvent ambiguë (Jax, 2005). Dans le cadre de la fertilité des sols, la décomposition des composés organiques du sol est une fonction majeure, mesurable par une valeur unique (taux de minéralisation nette) qui résulte d'une infinité de processus ( $n$  activités enzymatiques) dont l'intensité dépend à la fois de variables biotiques et abiotiques. Ainsi, les travaux de Fontaine et Barot (2005) et de Ekschmitt *et al.* (2005) ont souligné dès 2005 que ces processus de décomposition étaient contrôlés par la taille mais aussi la diversité et l'activité métabolique des communautés microbiennes du sol. Si la composition des communautés microbiennes actives du sol influence le type d'enzymes et la nature des enzymes (en termes de spécificité de substrats) synthétisées (Sinsabaugh *et al.*, 2008; Gianfreda et Ruggiero, 2006), peu de travaux s'étaient focalisés sur le triptyque : pratiques agricoles - diversité microbienne fonctionnelle - minéralisation N et S.

Dans un premier temps, nous avons étudié **en conditions contrôlées les interactions entre les plantes et les communautés microbiennes impliquées dans la dynamique de N et S**. Ces deux éléments ont été appréhendés de manière couplée dans la mesure où S permet une meilleure assimilation de N par les plantes et limite ainsi les conséquences environnementales liées à une mauvaise valorisation de N par les couverts végétaux. Deux écosystèmes ont été considérés pour l'étude de ces interactions, d'une part les écosystèmes prairiaux correspondant aux prairies naturelles ou permanentes de plus de 5 ans et d'autre part les systèmes de culture caractérisés par des rotations plus ou moins diversifiées. Dans un second temps, nous avons cherché à **évaluer in situ l'effet des systèmes de cultures sur différentes variables physico-chimiques et microbiennes en lien avec la fertilité des sols et le SE de fourniture d'N** (Figure 10).

### 3.2.3.2- Etude des interactions entre les plantes et les communautés microbiennes impliquées dans la dynamique de N et S : cas des écosystèmes prairiaux

**Dans les agroécosystèmes, différents filtres écologiques sont à l'origine d'une sélection des micro-organismes du sol.** Parmi ces filtres, le couvert végétal exerce un effet sélectif majeur du fait de l'entrée continue de C dans le sol qu'il assure notamment au travers de la litière et de l'activité du système racinaire (rhizodéposition et turnover des litières aériennes et racinaires). Les prairies naturelles présentent une diversité floristique élevée qui favorise le fonctionnement des écosystèmes (Tilman *et al.*, 1997). L'augmentation de la richesse spécifique dans les peuplements prairiaux peut avoir des effets positifs sur des processus impliqués dans des fonctions du sol telle que la fertilité minérale azotée (De Deyn *et al.*, 2009). Dès 2009, du fait de la complémentarité disciplinaire entre les écologues et sous l'impulsion de B. Amiaud, des réflexions ont débuté au sein de notre équipe sur les relations entre la diversité fonctionnelle des espèces prairiales et la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes impliquées dans le cycle interne de S. En effet, le fonctionnement d'un écosystème est plus susceptible de dépendre de la diversité fonctionnelle que de la diversité taxonomique (Naeem et Wright, 2003 ; Hooper *et al.*, 2005 ; Reiss *et al.*, 2009). La diversité fonctionnelle est la diversité des traits fonctionnels (Tilman, 2001). Un trait fonctionnel est "une caractéristique morphologique, physiologique ou phénologique mesurable au niveau de l'organisme, de la cellule jusqu'à l'organisme entier" qui conditionne la performance (survie, croissance, reproduction) d'un organisme dans l'écosystème (Violle *et al.*, 2007). Cette réflexion s'est rapidement étendue *via* une collaboration avec les collègues écologues (S. Lemauviel-Lavenant, E. Personeni) et écophysiologistes (J-B. Cliquet) de l'UMR EVA Caen au travers de la participation à l'encadrement d'un étudiant en M2 (2009) et d'un Pari Scientifique financé par le département INRAE EA sur la période 2011-2012. La théorie des stratégies fonctionnelles des espèces vis à vis des cycles des éléments minéraux oppose les espèces compétitives de milieux riches aux espèces conservatives préférentiellement retrouvées dans les milieux pauvres (Tilman, 1990). Les espèces compétitives

<sup>7</sup>présentent des potentialités d'exploitation des milieux plus développées (fort taux de croissance, besoins élevés en nutriments et meilleure efficacité d'acquisition de ces derniers) que les espèces conservatives (Tilman, 1990). Pour satisfaire leurs besoins en nutriments, les espèces compétitives peuvent renforcer le fonctionnement microbien du sol et notamment améliorer la minéralisation de l'N du sol (Wedin et Tilman, 1990). Parmi les hypothèses avancées, les espèces compétitives qui présentent des teneurs en sucres solubles dans leurs racines supérieures aux espèces conservatives (Personeni et Loiseau, 2004) pourraient allouer plus de C au sol *via* les processus de rhizodéposition. **Les espèces compétitives pourraient ainsi présenter des traits fonctionnels racinaires différents des espèces conservatives susceptibles de stimuler la composante microbienne et notamment les activités de minéralisation de la MOS.** La capacité des bactéries à minéraliser ou non certaines classes de molécules organiques (esters de sulfate, peptides...) est un trait fonctionnel qui peut modifier la disponibilité en éléments minéraux.

**En dépit du rôle essentiel du S dans les écosystèmes prairiaux, les effets de ces stratégies écologiques des plantes prairiales sur les communautés fonctionnelles ARS et la résultante sur la minéralisation de S n'avaient été et ne sont encore que peu abordés dans la littérature.** Les travaux antérieurs sur le S ont mis en évidence que les flux de S sont fortement modulés par la disponibilité en C du sol et par la nature de ce C (Vong *et al.*, 2007 ; Niknahad-Gharmakher *et al.*, 2012 ; Usman, 2008). L'hypothèse posée était la suivante : les espèces compétitives du fait de leurs traits fonctionnels soutiennent la croissance de microbes à stratégie r présentant une forte activité spécifique de minéralisation permettant la libération d'éléments minéraux mais aussi une immobilisation pouvant conduire à de plus faibles disponibilités en éléments.

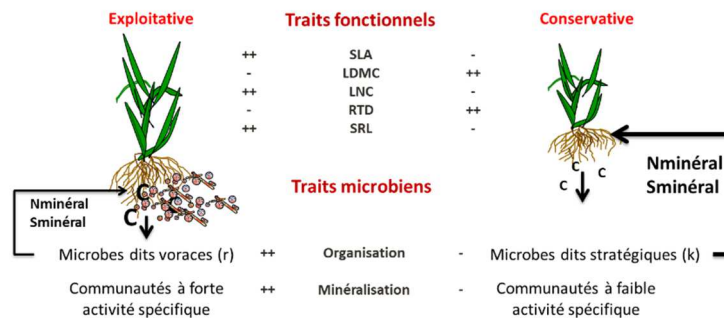


Figure 29 : Hypothèses de travail sur les effets des stratégies écologiques abordées via les traits fonctionnels sur les traits microbiens et la résultante en termes de flux nets de minéralisation et immobilisation de N et S (d'après le modèle de Kinzig et Harte, 1998)

Légende :

- Microbes dits stratégiques = taux d'immobilisation N et S faible de façon à favoriser la disponibilité en N et S pour la plante et maintenir la rhizodéposition de C et ses effets positifs sur les micro-organismes
- Microbes dits voraces ou tacticiens = fort taux d'immobilisation de N et S / C disponible dans le milieu qui peut limiter disponibilité en N et S pour la plante et limiter la rhizodéposition de C

Les premiers travaux réalisés dans le cadre du M2 de Nicolas Legay ont permis de mettre en évidence que les stratégies des espèces prairiales compétitives du fait de leurs caractéristiques racinaires (traits fonctionnels racinaires) pouvait absorber plus de S que les espèces conservatives (Legay *et al.*, 2014b). Il est donc possible de considérer d'une part que les stratégies écologiques décrites pour l'acquisition de N peuvent être transposées à S (Figure 30) et d'autre part que les traits racinaires pourraient être des marqueurs pertinents de l'acquisition de S. Néanmoins, ces différences de stratégie ne s'accompagnent pas de modification significative des communautés microbiennes fonctionnelles ARS.

<sup>7</sup> Les espèces compétitives correspondent aux espèces aussi dites allocatives ou exploitatives dans la littérature

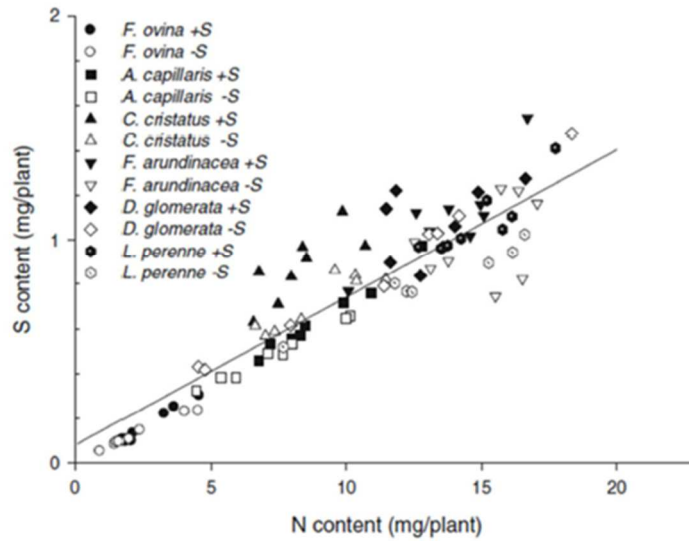


Figure 30 : Relation entre la teneur en N et S des parties aériennes (Legay et al., 2014b)

Ce travail conduit sur des espèces prairiales en peuplement monospécifique a été prolongé par un Pari scientifique financé par l'INRA s'intéressant aux relations entre la diversité fonctionnelle d'espèces végétales prairiales et la diversité fonctionnelle de communautés microbiennes impliquées dans la dynamique des nutriments N/S. **Ce projet avait pour objectif d'étudier l'effet d'espèces végétales prairiales (8 espèces en peuplement monospécifique ou en mélange), différant dans leurs stratégies de croissance et d'acquisition /recyclage de N et S, sur i) les communautés microbiennes, dont celles impliquées dans des étapes clés de la minéralisation de N et S et ii) les flux de ces 2 éléments.**

Les résultats ont mis en évidence :

- **L'abondance des communautés bactériennes totales en couverts monospécifiques est influencée significativement par les groupes fonctionnels ( $p < 0,001$ , Figure 31).** Au sein de chaque groupe fonctionnel, l'abondance des communautés bactériennes totales sous l'espèce compétitive est significativement supérieure à celle sous l'espèce conservatrice suggérant un effet des stratégies écologiques des espèces végétales et des différences de rhizodéposition ( $p < 0,01$ , Figure 31). **Par contre ces différences d'abondances n'expliquent pas les différences de flux de S entre les espèces.**

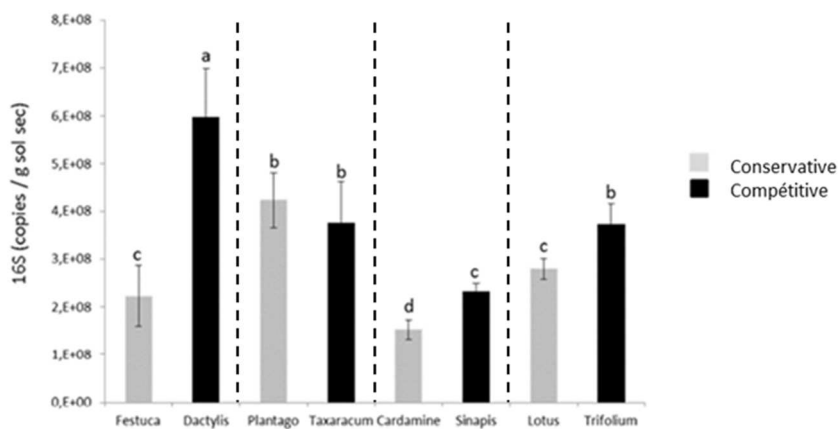


Figure 31 : Abondance des communautés bactériennes totales sous les différentes espèces selon les groupes fonctionnels et les stratégies écologiques considérées (N=4 par espèce). Les groupes fonctionnels sont délimités par les pointillés



- **Les espèces prairiales cultivées en mélanges plurispécifiques influencent positivement l'activité ARS (Figure 32) et les flux nets de S.** En effet, les flux nets de S sont globalement plus importants dans les mélanges contenant au moins 3 espèces compétitives.

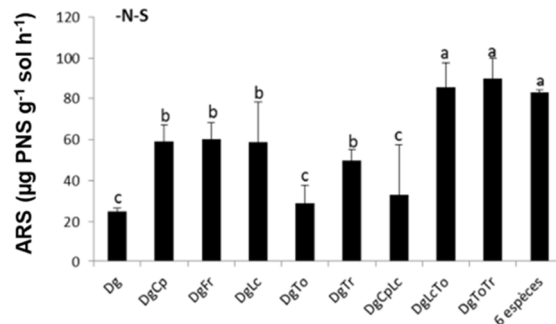


Figure 32 : Activité ARS sous différents mélanges variant selon le niveau de diversité fonctionnelle

Dg : *Dactylis glomerata* (espèce compétitive); Cp : *Cardamine pratensis* (espèce conservatrice); Fr : *Festuca rubra* (espèce conservatrice); To : *Taraxacum officinale* (espèce compétitive); Tr : *Trifolium repens* (espèce compétitive); Lc : *Lotus corniculatus* (espèce conservatrice)

Ces résultats semblent aller dans le sens de l'hypothèse selon laquelle la complémentarité fonctionnelle (coexistence de stratégies d'acquisition des éléments minéraux différents du fait d'une diversité de traits fonctionnels racinaires) entre espèces prairiales favorise la disponibilité en S *via* l'activité ARS.

### 3.2.3.3- Etude des interactions entre les plantes et les communautés microbiennes impliquées dans la dynamique de N et S : cas des systèmes de culture annuel

A l'échelle d'un système de culture, la succession d'espèces végétales différentes peut occasionner des modifications globales de la diversité microbienne des sols et des fonctions assurées par cette dernière notamment en relation avec les processus de décomposition des MOS. Différentes études montrent un impact de la composition des successions des cultures sur la diversité microbienne des sols (Alvey *et al.*, 2003 ; Yao *et al.*, 2006) et sur l'activité de ces microbes (Larkin, 2003). **De manière générale, l'alternance de cultures favorise les communautés microbiennes notamment en maintenant l'abondance et la diversité spécifique.** La succession d'une même plante au cours du temps peut sélectionner fortement certains genres microbiens réduisant de ce fait la diversité spécifique (Yao *et al.*, 2006). Peu d'études se sont focalisées par contre sur l'impact de la succession culturale sur la diversité fonctionnelle dans les agroécosystèmes.

Des réflexions lancées dès 2010 ont permis de mettre en place dès 2008 un essai d'allongement de rotation sur le domaine expérimental de la Bouzule. Cet essai de plein champ sur 5 ha visait à évaluer les effets de la diversification des successions culturales sur les communautés microbiennes en lien avec la fertilité des sols mais aussi sur les caractéristiques taxonomiques et fonctionnelles des communautés d'adventices (Piutti *et al.*, 2010). **Dans ce contexte, le projet développé dans le doctorat de Nicolas Romillac visait à évaluer l'effet de l'introduction du pois de printemps dans une rotation culturale à base de cultures d'hiver (céréales et colza) sur (i) l'abondance et la diversité des communautés microbiennes du sol (particulièrement impliquées dans la minéralisation de N et S) et des communautés d'adventices, (ii) les fonctions écosystémiques associées (minéralisation nette de N et S et compétition entre la culture et les adventices) (Figure 33).** Ces fonctions, apparemment assez éloignées l'une de l'autre, sont en réalité conjointes du fait que la disponibilité des ressources minérales doit interférer sur le niveau de compétition entre espèces cultivées et adventices. Ce dernier



point justifie donc que dans une approche systémique les effets sur les deux types de communautés végétale et bactérienne soient analysés simultanément. Ce travail de recherche a permis d'étudier les interactions entre les communautés microbiennes et les communautés végétales abordées à la fois sous l'angle taxonomique et fonctionnel en considérant la diversité végétale planifiée (peuplement cultivé) et naturelle (communautés d'adventices). Seule la partie concernant les effets des caractéristiques écophysiological des plantes cultivées sur les communautés microbiennes impliquées dans la dynamique de N (Romillac *et al.*, 2015 ; Romillac *et al.*, 2019) sera ici détaillée.

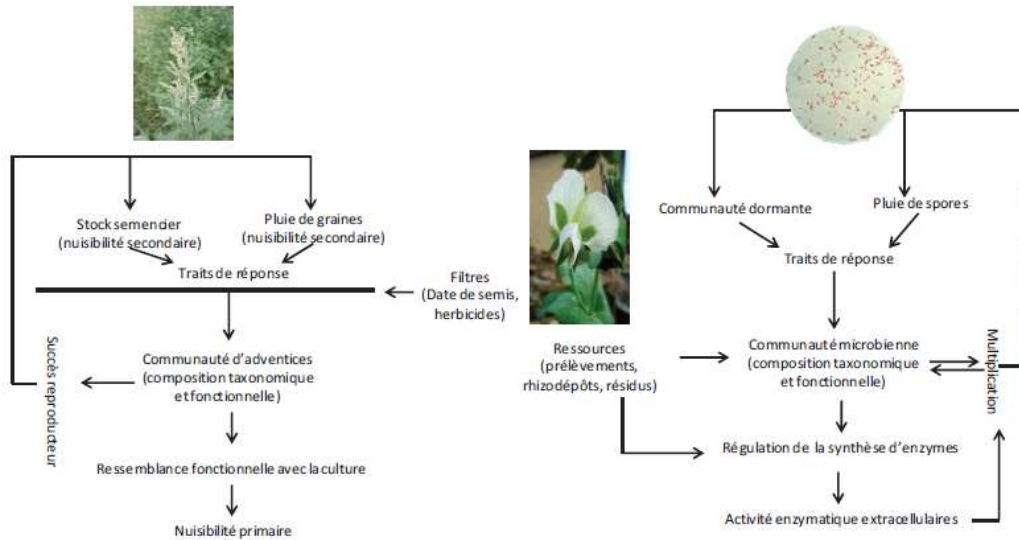


Figure 33 : Schéma conceptuel de l'effet du pois de printemps sur les communautés microbiennes du sol et les communautés d'adventices (Romillac 2015)

**Principaux résultats :**

Les modèles végétaux considérés dans cette partie sont deux plantes annuelles cultivées, le pois et le blé, cultivées en conditions contrôlées afin d'étudier leurs effets sur des fonctions impliquées dans le service de fourniture d'N. Les deux processus microbiens ciblés sont la dégradation des protéines (activités protéases) et l'ammonification. L'effet des deux espèces végétales est abordé selon l'angle fonctionnel au travers de la caractérisation des traits fonctionnels aériens et racinaires et de leur contribution aux processus microbiens étudiés.

Le pois a une influence variable sur l'ammonification en fonction de son stade de développement liée à sa dynamique de rhizodéposition en lien avec ses traits racinaires (Romillac *et al.*, 2015). **Au cours de la phénologie du pois, un ensemble de traits racinaires (% de racines fines et longueur racinaire) liés aux processus de rhizodéposition et d'acquisition des éléments nutritifs contribuent à expliquer les variations de l'activité d'ammonification soit directement, soit en modulant les teneurs en C extractible du sol (Figure 34).**

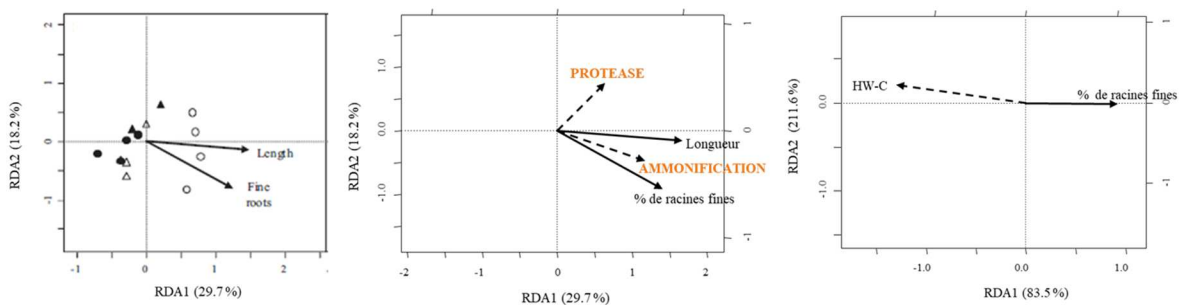


Figure 34 : Analyse canonique de redondance (RDA) mettant en relation les activités enzymatiques et les traits racinaires

Les stades de développement du pois sont représentés par les différents figurés : triangle noir : stade 3 feuilles, cercle noir : stade 5 feuilles, triangle blanc : premières fleurs, cercle blanc : début remplissage du grain. Sur le biplot, les lignes correspondent aux variables explicatives et les lignes en pointillées correspondent aux variables à expliquer

**Par contre, l'activité protéase est peu variable au cours de l'évolution phénologique du blé et peu dépendante des traits racinaires.** En effet cette activité qui intervient plus en amont de la minéralisation de N et qui constitue souvent une étape limitante (Jan *et al.*, 2009) est surtout influencée par les résidus de culture de pois enfouis après la récolte (Figure 35). **Ainsi, l'activité protéase du sol augmente en réponse à l'apport de résidus de pois (Figure 35B),** alors que la présence passée du pois en tant que précédent cultural (c'est-à-dire les sols contenant des apports organiques de type rhizodépôts) n'influence pas cette activité (Figure 35C). Ces résultats sont conformes avec des données de la littérature scientifique qui montrent que les protéases sont principalement surexprimées en réponse à l'apport de leurs substrats notamment les protéines (Geisseler et Horwath, 2008, 2009). Les résidus de culture représentent la voie principale d'apport de protéines dans le sol (Jan *et al.*, 2009 ; Jones *et al.*, 2005), en particulier si l'on considère les résidus de pois, qui contiennent au moins deux fois plus de protéines que les résidus de céréales (Jensen *et al.*, 2012 ; Munier-Jolain et Salon, 2005).

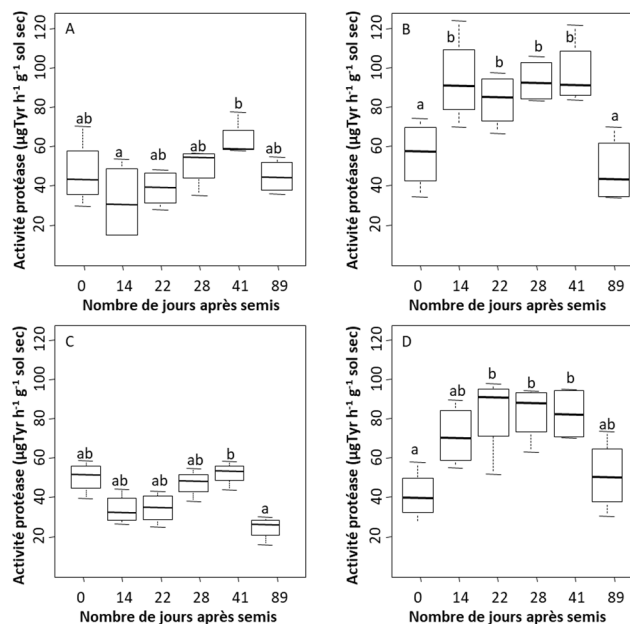


Figure 35 : Evolution temporelle de l'activité protéase sur des sols amendés ou non avec des résidus de culture de pois

A, sol témoin sans précédent cultural; B, sol amendé avec des résidus de pois; C, sol cultivé avec un précédent pois; D, sol cultivé avec un précédent pois et amendé avec des résidus de pois. Les lettres différentes indiquent des différences statistiques au sein de chaque modalité de sol ( $P < 0,05$ )

Des analyses de type RDA ont été utilisées pour évaluer l'effet des variables du sol et des traits fonctionnels racinaires sur l'activité protéase du sol durant le cycle de développement du blé. **L'activité protéase est significativement corrélée à la biomasse microbienne azotée ( $r=0,43$ ,  $p<0,001$ ) qui est un marqueur de l'immobilisation d'N.** Les traits racinaires ne sont par contre que peu explicatifs. Ces résultats sont conformes à ceux de Legay *et al.* (2014a) montrant que les traits racinaires n'ont pas d'effets directs sur les activités impliquées dans la minéralisation de l'N, telles que la nitrification. Le pourcentage de racines fines (diamètre inférieur à 0,1 mm) est le seul trait racinaire qui contribue aux variations de l'activité protéase du sol ( $r=-0,30$ ,  $p<0,01$ ) contrairement à d'autres traits racinaires (biomasse des racines, longueur spécifique des racines, teneur en azote racinaire) impliqués eux aussi dans l'interception et l'absorption des nutriments par les plantes. Cette relation négative pourrait être

liées au fait que le fort taux de renouvellement des racines fines pendant les stades de reproduction du blé pourrait fournir une quantité importante d’N labile (Steinauer *et al.*, 2017) et, par conséquent, limiter la synthèse de protéases extracellulaires microbiennes.

**Caractère innovant de ces travaux et retombées potentielles**

L’ensemble des résultats obtenus sur les interactions fonctionnelles plantes-communautés microbiennes soulignent que selon les conditions (disponibilités en C et N du sol) et les espèces considérées (Fabacées, Poacées ou autres), **les traits racinaires impliqués dans l’acquisition des nutriments peuvent avoir une influence plus ou moins significative sur certaines activités microbiennes du sol impliquées dans le cycle de N.** Parmi les traits racinaires, le pourcentage de racines fines semble un trait majeur à considérer dans les études de compréhension des effets des plantes sur les activités microbiennes du sol impliquées dans la minéralisation de l’azote. Les interactions entre les plantes et les communautés microbiennes peuvent aussi être influencées par les résidus de culture qui constituent des substrats susceptibles d’induire la synthèse d’enzymes protéolytiques du sol. **Nos résultats suggèrent fortement que l’induction par le substrat est le mécanisme dominant de régulation des activités protéases du sol. Contrairement à nos attentes, les traits racinaires n’expliquent qu’une faible part de variation de cette activité microbienne.**

**L’extrapolation de ces résultats obtenus en conditions contrôlées reste cependant difficile du fait que de nombreuses interactions ne sont pas prises en compte.** En effet la part d’explication des facteurs climatiques ainsi que des pratiques agricoles sur ces activités microbiennes n’a pu être intégrée dans cette partie focalisée sur l’étude fine des interactions plante-communautés microbiennes.

**Ces travaux de recherche ont été au cœur du doctorat de Nicolas Romillac et de différents stagiaires. Ils ont donné lieu à 3 publications scientifiques dont 1 publication en collaboration avec les collègues de l’UMR EVA Caen. De nombreuses données expérimentales non présentées dans ce bilan et acquises dans le cadre d’autres collaborations (UMR Agroécologie Dijon ou UMR Silva) restent encore à publier dans les mois à venir sur les interactions fonctionnelles plantes-communautés microbiennes.**

*3.2.4-Les effets des systèmes de cultures et des variables pédoclimatiques sur les indicateurs microbiens et la fourniture en éléments minéraux des sols*

Cette partie se décline en deux projets distincts du point de vue de leurs questions scientifiques et de leur design expérimental mais complémentaires dans l’acquisition de connaissances sur l’effet des filtres biotiques et abiotiques (plantes, pédoclimat et pratiques agricoles) sur les fonctions microbiennes du sol et le service de fourniture en éléments minéraux dans les systèmes de culture.

**Projet 1 : Effets des espèces cultivées et des facteurs climatiques sur les variables d’abondance et d’activités des communautés microbiennes impliquées dans la minéralisation de N et S**

**Ce projet correspond à la partie expérimentale *in situ* réalisée en partie lors du doctorat de Nicolas Romillac (Romillac, 2015). L’objectif était d’évaluer les effets des couverts végétaux en interaction avec les conditions climatiques sur l’abondance et les activités des communautés microbiennes impliquées dans la minéralisation de N et S.** Différentes espèces annuelles (colza, orge et pois) ayant des exigences contrastées en N et S et des niveaux de rhizodéposition différents ont été ainsi mises en place sur un essai expérimental. Cet essai été conduit d’août 2008 à août 2013, soit 5 campagnes de cultures, sur une parcelle (4,8 ha) de la ferme expérimentale de la Bouzule (Champenois, France, 48° 74’ N, 6° 35’ E). Le dispositif expérimental est présenté sur la *figure 36*. Différentes variables microbiennes (abondance, diversité et activité des communautés microbiennes du sol notamment

impliquées dans la minéralisation de N et S) ont été déterminées 2 fois par an pendant 5 années successives.

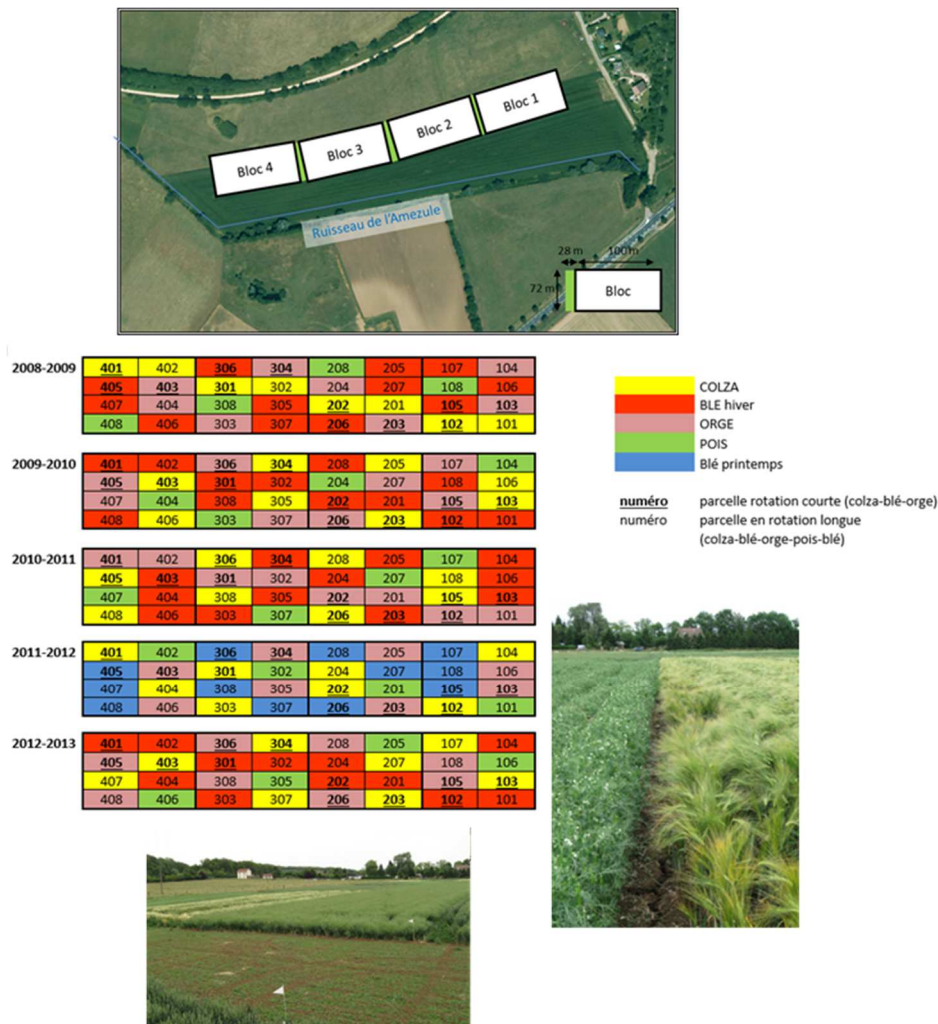


Figure 36 : Dispositif expérimental mis en place sur la période 2008-2013. Deux systèmes de culture ont été comparés (rotation 3 ans vs rotation 5 ans avec introduction d'un pois de printemps)

Ces résultats sont encore en cours de valorisation. Parmi les facteurs susceptibles de modifier les communautés microbiennes du sol, le couvert végétal exerce un effet sélectif majeur du fait de l'entrée continue de carbone dans le sol qu'il assure notamment au travers de l'activité du système racinaire (rhizodéposition) et du turnover des litières aériennes et racinaires. **Malgré le fait que certaines espèces (notamment le pois) ait pu présenter des traits racinaires et/ou une rhizodéposition susceptibles de moduler des activités enzymatiques en lien avec le cycle de N en conditions contrôlées, les impacts des espèces cultivées sur les communautés microbiennes du sol ont été plus difficiles à mettre en évidence *in situ*.** En effet, au champ, les facteurs biotiques et abiotiques interagissent, ce qui limite la mise en évidence d'effets significatifs individuels. Des arbres de régression ont été utilisés pour évaluer l'importance relative de l'espèce cultivée et de la date d'échantillonnage sur les changements d'abondances et d'activités microbiennes (Figure 37). La date d'échantillonnage apparaît plus explicative que l'espèce végétale que ce soit pour les abondances (65 %) et les activités microbiennes (100 %). **Ainsi, chaque variable microbienne mesurée au champ semble plus influencée par la date d'échantillonnage (reflétant la variabilité saisonnière et interannuelle) que par la phénologie et les caractéristiques des espèces cultivées.**

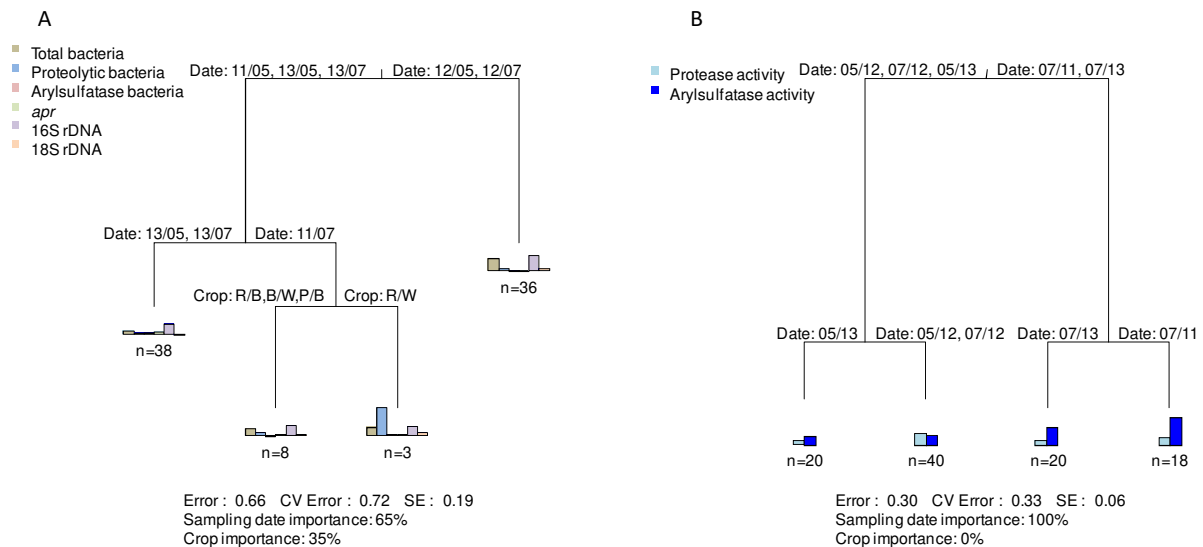


Figure 37 : Arbres de régression multiple des abondances (A) et des activités microbiennes (B) expliquées par la date d'échantillonnage (Date) et l'espèce cultivée (Crop)

Les variables à chaque nœud indiquent le facteur le plus influent pour la prévision des variables microbiennes. R/W : colza sur précédent blé, R/B : colza sur précédent orge, B/W : orge sur précédent blé, P/B : pois sur précédent orge. Les histogrammes indiquent la valeur de chaque variable et les chiffres ci-dessous indiquent le nombre d'échantillons de sol (n)

Afin de comprendre l'effet de la date d'échantillonnage sur les changements d'abondances et d'activités microbiennes, nous avons effectué des analyses de type RDA, en utilisant comme variables explicatives les températures moyennes et les précipitations cumulées sur différents pas de temps avant l'échantillonnage ou depuis le semis des cultures. Ces analyses réalisées sur l'ensemble des espèces ont montré que les variables climatiques expliquaient mieux les variations d'activités microbiennes (ARS et protéase) que celles des abondances microbiennes ( $r^2=0,61$  et  $0,36$ , respectivement). **De plus, les abondances microbiennes apparaissent plutôt influencées par les précipitations cumulées, et les activités microbiennes plutôt par la température moyenne.** Contrairement aux expérimentations menées en conditions contrôlées sur le pois, nous avons mesuré sur les échantillons prélevés au champ, les flux de minéralisation nets de N et S. **Les résultats mettent en évidence que la minéralisation nette de N et S est mieux expliquée par les activités enzymatiques microbiennes (activités arylsulfatase et protéase) que par les variables d'abondance microbienne.** La minéralisation nette de N et de S est ainsi corrélée négativement avec l'activité arylsulfatase ( $r^2=0,31$ ,  $p<0,001$  et  $0,38$ ,  $p<0,001$  respectivement), tandis que la minéralisation nette de N est corrélée avec l'activité protéase ( $r^2=0,13$ ,  $p<0,01$ ).

**Les résultats de ce projet mettent ainsi en évidence que la plante, qui au travers de sa phénologie et ses traits fonctionnels, était un filtre majeur de l'activité microbienne en lien avec la dynamique de N en conditions contrôlées, présente en conditions de plein champ, un effet moindre en comparaison des facteurs climatiques (températures moyennes et les précipitations cumulées). Néanmoins en complément des résultats obtenus en conditions contrôlées, les flux de minéralisation nette de N et S apparaissent mieux expliqués par les activités enzymatiques que par les variables d'abondance microbienne suggérant que ces enzymes peuvent constituer des proxis de la capacité du sol à assurer la fourniture de N et S. Néanmoins il semble pour le moins difficile d'extrapoler à d'autres systèmes de cultures dans des conditions pédoclimatiques différentes de celle de la ferme expérimentale de la Bouzule.**

**Projet 2 : Evaluation de l'effet des systèmes de culture en polyculture élevage sur les indicateurs microbiens et le SE de fourniture d'N.**



**Ce projet correspond au travail réalisé par Caroline Petitjean dans le cadre de son post-doctorat financé par le CNIEL (Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière).** Ce travail de recherche a été amorcé fin 2014 suite à une collaboration initiale entre certains membres de l'équipe et l'Idel (Institut de l'élevage) dans le cadre du projet CASDAR INDIBIO, centrée sur la mise au point d'indicateurs pour évaluer la biodiversité dans les systèmes d'élevage. La composante sol n'ayant pas été prise en compte dans ce premier projet collaboratif, **nous avons fait une demande de financement de 24 mois de Post-doctorat auprès du CNIEL (Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière) pour travailler sur l'identification de variables indicatrices et l'évaluation de l'effet des pratiques agricoles sur la fertilité des sols dans les systèmes de polyculture élevage.** En effet si les systèmes de culture et pratiques agricoles associés ont un impact sur la diversité biologique et le fonctionnement des sols, selon les conditions pédo-climatiques et les systèmes de production considérés il apparaît difficile au travers de la bibliographie de conclure sur ces effets et d'effectuer des prévisions sur l'amélioration à court, moyen et long terme la fertilité des sols.

**Les objectifs du projet étaient :**

- **D'identifier des variables microbiennes capables de qualifier la fertilité des sols dans les systèmes laitiers (polyculture-élevage),**
- **D'évaluer, à l'aide de ces variables, l'effet des pratiques agricoles sur la fertilité.**

Pour atteindre les objectifs, trois actions principales ont été mises en place :

- Action 1 : réaliser une enquête sur la fertilité des sols dans le contexte de la polyculture-élevage, auprès d'un panel d'experts, pour comprendre comment sont perçus les liens entre les pratiques/systèmes agricoles et la fertilité des sols ;
- Action 2 : identifier des indicateurs permettant de qualifier la fertilité des sols et analyser la sensibilité et la pertinence de ces indicateurs à différentes pratiques agricoles (recherches bibliographiques) ;
- Action 3 : tester au travers d'expérimentations de terrain les indicateurs sélectionnés sur un gradient de systèmes agricoles laitiers et formaliser les relations qui existent entre les pratiques agricoles et les indicateurs.

Action 1 : Réalisation de l'enquête "fertilité des sols et pratiques agricoles".

Des entretiens individuels semi-directifs de préférence de visu ont été réalisés à l'échelle nationale auprès de différents experts (INRAE, Chambres d'Agriculture, Instituts techniques, Lycées agricoles...) sur la notion de fertilité et sur les effets des pratiques agricoles sur cette dernière. Trente-deux personnes avec des fonctions différenciées (zootechniciens, agronomes, conseillers, chercheurs...) ont été ainsi interrogées sur la période de mars à juillet 2015. **Les résultats mettent en évidence d'une part une forte délimitation géographique de la fertilité des sols et d'autre part que la composante biologique de la fertilité n'est que peu prise en compte pour l'établissement de cette délimitation (Figure 38).** La raison majeure évoquée notamment pour expliquer ce manque de prise en compte de la composante biologique pour caractériser la fertilité des sols sont un "manque d'informations, de données, de connaissances".



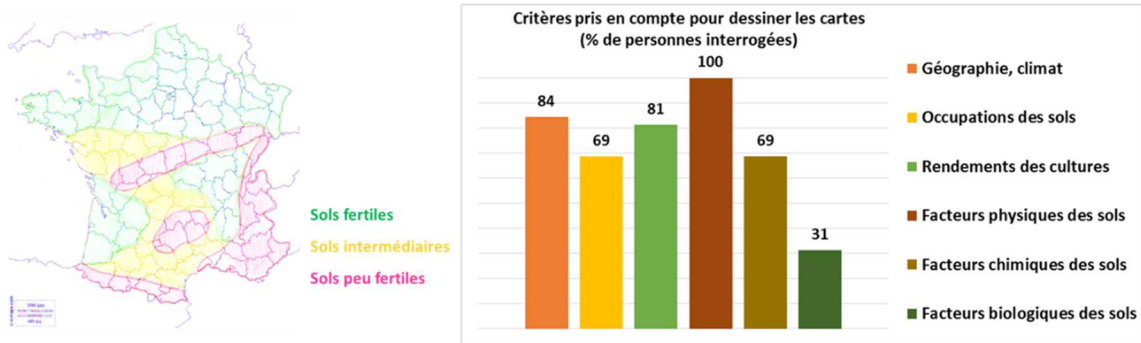


Figure 38 : Carte à dire d'experts sur la fertilité des sols agricoles et représentativité des critères pris en compte par les experts pour positionner les différences de fertilité des sols à l'échelle nationale

Cette enquête a notamment permis de déterminer les pratiques agricoles ayant la plus grande influence sur la fertilité des sols "à dire d'experts" (Figure 39), parmi lesquelles **la gestion raisonnée des apports de matières organiques, la diversification, l'allongement des rotations et la réduction et adaptation du travail du sol, la mise en place de couverts plus ou moins permanents et l'utilisation de matériel adapté selon les conditions.**

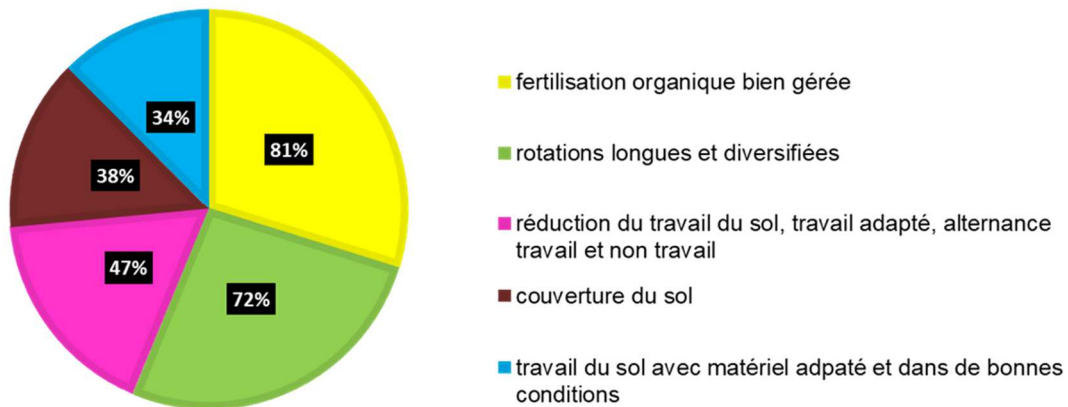


Figure 39 : Pourcentage de citation des 5 pratiques les plus favorables pour la fertilité des sols

#### Action 2 : Sélection d'indicateurs de fertilité biologique des sols.

Une procédure de recherche bibliographique (avril 2015- décembre 2015) a été mise au point pour trouver des publications scientifiques présentant des variables indicatrices de la fertilité biologique des sols mesurées dans différents systèmes agricoles et contextes pédo-climatiques. **L'étude a ciblé des indicateurs microbiens des sols (par exemple : l'abondance, la diversité et les activités des microorganismes) car les communautés microbiennes sont des acteurs clés de la décomposition et minéralisation des MOS et in fine de la fourniture d'éléments minéraux aux plantes.** Deux variables microbiennes ont été ciblées pour l'action 3 : la biomasse microbienne et les activités enzymatiques microbiennes en lien avec différents cycles bio-géochimiques (C, N, P et S). La détermination des quantités de C et/ou N de la biomasse microbienne par la méthode de fumigation au chloroforme est largement utilisée pour évaluer les effets de l'usage des terres et des pratiques agricoles sur le fonctionnement microbiologique des sols (par exemple Kallenbach et Grandy, 2011 ; Zuber et Villamil, 2016). La biomasse microbienne est directement en lien avec les cycles biogéochimiques du C et de l'N, constituant un intérêt majeur lorsque l'on souhaite étudier la dynamique de ces éléments dans le sol. La biomasse microbienne est responsable, *via* les enzymes qu'elle synthétise, de la dégradation des MOS et ainsi, de l'enrichissement du sol en éléments minéraux potentiellement assimilables par les cultures. Sachant que les activités enzymatiques microbiennes peuvent être des indicateurs sensibles aux changements des pratiques agricoles (par exemple Bandick et Dick, 1999; García-Ruiz et

al., 2008 ; Zhang *et al.*, 2015), il semble pertinent de mesurer conjointement la biomasse microbienne et des activités enzymatiques intervenant dans la minéralisation des MOS pour évaluer la fertilité des sols. Les données bibliographiques ont été regroupées au sein d'une base de données en vue de la réalisation d'une méta-analyse ciblée sur les indicateurs les plus pertinents, sensibles et robustes pour qualifier la fertilité des sols dans les systèmes de polyculture-élevage.

**Action 3 : Mesure des indicateurs dans différents contextes pédoclimatiques et systèmes de culture et formalisation des relations qui existent entre les pratiques agricoles et les indicateurs mesurés.**

Des sites expérimentaux (fermes et essais expérimentaux de longue et moyenne durée), présentant des pratiques agricoles contrastées (apports d'effluents d'élevage, diversification des rotations, réduction du travail du sol) et mises en place depuis 5 ans (ou plus) ont été choisis dans différents contextes pédoclimatiques (Figure 40). **Chaque site correspond à des pratiques agricoles spécifiques en lien avec la gestion des apports de MO de type effluents d'élevage ou la diversification de la rotation ou la réduction du travail du sol.** Des prélèvements de sols (119 échantillons composites) ont été effectués sur ces sites entre mars et mai 2016.

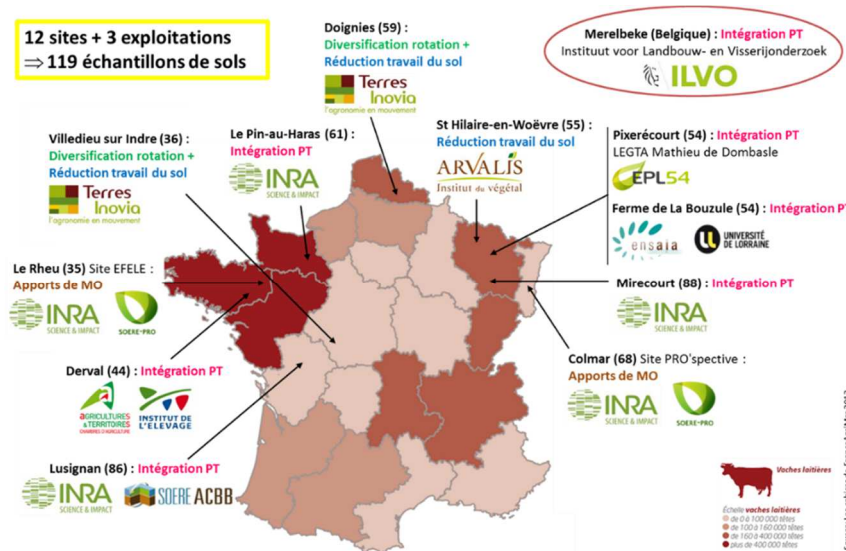


Figure 40 : Localisation et caractéristiques des différents sites d'échantillonnage

Les premières analyses de données se sont focalisées sur les six sites expérimentaux mis en place selon des dispositifs en blocs. Ces 6 sites présentent des propriétés physico-chimiques différentes (Tableau 9).

Tableau 9 : Moyennes ± écart-type des paramètres physico-chimiques des sols (0-15 cm) pour les six dispositifs expérimentaux. Pour chaque colonne, des lettres différentes indiquent une différence significative entre les dispositifs (Anova, p-value < 0,05 avec ajustement de Tukey). MS : matière sèche ; CaCO3 : calcaire total ; C org. : carbone organique ; N : azote.

Dispositif	Texture dominante (0-15 cm)	Argile (%)	Limons (%)	Sables (%)	pH eau (unité pH)	CaCO <sub>3</sub> (%)	C org. (%)	N total (%)
Colmar	Limono-argileuse / limoneuse	21,5 <sup>a</sup> ± 0,8	70,5 <sup>a</sup> ± 0,7	8,0 <sup>a</sup> ± 0,7	8,5 <sup>a</sup> ± 0,0	10,3 <sup>a</sup> ± 1,2	1,16 <sup>a</sup> ± 0,09	0,13 <sup>a</sup> ± 0,01
Le Rheu	Limoneuse	12,7 <sup>b</sup> ± 0,3	71,8 <sup>a</sup> ± 1,4	15,0 <sup>b</sup> ± 1,2	6,4 <sup>b</sup> ± 0,2	< 0,1 <sup>b</sup>	1,07 <sup>a</sup> ± 0,07	0,12 <sup>ab</sup> ± 0,01
Lusignan	Limoneuse	14,1 <sup>b</sup> ± 0,7	69,8 <sup>a</sup> ± 2,4	16,1 <sup>b</sup> ± 2,3	6,6 <sup>b</sup> ± 0,4	< 0,1 <sup>b</sup>	1,06 <sup>a</sup> ± 0,12	0,12 <sup>ab</sup> ± 0,02
Merelbeke	Sablo-limoneuse	6,4 <sup>c</sup> ± 1,1	28,8 <sup>b</sup> ± 4,0	64,9 <sup>c</sup> ± 3,1	6,1 <sup>c</sup> ± 0,6	< 0,1 <sup>b</sup>	1,00 <sup>a</sup> ± 0,27	0,09 <sup>a</sup> ± 0,02
Doignies	Limoneuse	14,8 <sup>b</sup> ± 1,8	80,7 <sup>a</sup> ± 1,9	4,6 <sup>a</sup> ± 0,3	8,3 <sup>ab</sup> ± 0,1	4,2 <sup>c</sup> ± 3,7	1,56 <sup>b</sup> ± 0,17	0,16 <sup>a</sup> ± 0,01
Villedieu-sur-Indre	Argilo-sableuse	30,7 <sup>d</sup> ± 7,5	13,5 <sup>d</sup> ± 2,5	55,8 <sup>d</sup> ± 9,8	8,2 <sup>c</sup> ± 0,1	4,1 <sup>c</sup> ± 4,0	1,95 <sup>b</sup> ± 0,59	0,24 <sup>c</sup> ± 0,07

Ces résultats de caractérisation physicochimique suggérant une variabilité inter-site supérieure à la variabilité intra-site, nous avons voulu dans un premier temps évaluer la gamme de valeurs prises

**pour chaque indicateur microbien sur les sites sans considérer isolément les modalités de pratiques agricoles.** La gamme des valeurs d'indicateurs mesurés pour différents types de sols est très étendue. Si l'on considère le carbone de la biomasse microbienne, les moyennes par dispositif varient de 159 à 488  $\mu\text{g C g}^{-1}$  sol alors que les moyennes par dispositif des activités enzymatiques varient d'un facteur compris entre 2,7 (pour les protéases) et 9,7 (pour les ARS) (Tableau 10). La variabilité des valeurs d'activités enzymatiques a déjà été mise en évidence par des études menées à différentes échelles spatiales, de la région agricole (Acosta-Martínez *et al.*, 2007), à différents biomes (Hendriksen *et al.*, 2016), jusqu'à l'échelle continentale (Sinsabaugh *et al.*, 2008). Ces précédentes études ont montré les effets des propriétés des sols, du climat et de l'usage des terres sur les activités enzymatiques microbiennes.

Tableau 10 : Moyenne  $\pm$  écart-type des variables microbiennes des sols (0-15 cm) pour les six dispositifs expérimentaux

Dispositif	Biomasse microbienne		Arginine aminopeptidases		Leucine aminopeptidases		Protéases		Phosphatases		$\beta$ -Glucosidases		Arylsulfatases	
	$\mu\text{g C g}^{-1}$ sol	% C	nmol h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> sol	$\mu\text{mol h}^{-1}$ g <sup>-1</sup> C	nmol h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> sol	$\mu\text{mol h}^{-1}$ g <sup>-1</sup> C	$\mu\text{g Tyr h}^{-1}$ g <sup>-1</sup> sol	mg Tyr h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> C	nmol h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> sol	$\mu\text{mol h}^{-1}$ g <sup>-1</sup> C	nmol h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> sol	$\mu\text{mol h}^{-1}$ g <sup>-1</sup> C	nmol h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> sol	$\mu\text{mol h}^{-1}$ g <sup>-1</sup> C
Colmar	356 $\pm$ 88	3,1 $\pm$ 0,7	226 $\pm$ 25	20 $\pm$ 2	234 $\pm$ 28	20 $\pm$ 2	66 $\pm$ 15	6 $\pm$ 1	247 $\pm$ 20	21 $\pm$ 2	460 $\pm$ 74	40 $\pm$ 6	11 $\pm$ 2	1 $\pm$ 0
Le Rheu	191 $\pm$ 61	1,8 $\pm$ 0,5	153 $\pm$ 33	14 $\pm$ 3	230 $\pm$ 38	21 $\pm$ 3	115 $\pm$ 12	11 $\pm$ 1	881 $\pm$ 88	83 $\pm$ 11	501 $\pm$ 75	47 $\pm$ 7	107 $\pm$ 21	10 $\pm$ 2
Lusignan	159 $\pm$ 49	1,5 $\pm$ 0,5	156 $\pm$ 36	15 $\pm$ 3	207 $\pm$ 57	19 $\pm$ 4	117 $\pm$ 19	11 $\pm$ 1	1246 $\pm$ 252	117 $\pm$ 14	565 $\pm$ 129	53 $\pm$ 8	54 $\pm$ 20	5 $\pm$ 2
Merelbeke	274 $\pm$ 68	2,8 $\pm$ 0,4	74 $\pm$ 17	8 $\pm$ 2	100 $\pm$ 13	10 $\pm$ 2	66 $\pm$ 15	7 $\pm$ 1	1095 $\pm$ 494	107 $\pm$ 27	297 $\pm$ 81	30 $\pm$ 6	38 $\pm$ 18	4 $\pm$ 2
Doignies	256 $\pm$ 77	1,6 $\pm$ 0,5	352 $\pm$ 47	23 $\pm$ 3	375 $\pm$ 34	24 $\pm$ 2	175 $\pm$ 16	11 $\pm$ 1	1302 $\pm$ 125	85 $\pm$ 14	681 $\pm$ 84	44 $\pm$ 5	50 $\pm$ 5	3 $\pm$ 1
Villedieu-sur-Indre	488 $\pm$ 151	2,5 $\pm$ 0,4	337 $\pm$ 74	18 $\pm$ 3	468 $\pm$ 81	25 $\pm$ 4	167 $\pm$ 35	9 $\pm$ 2	534 $\pm$ 59	30 $\pm$ 8	927 $\pm$ 120	51 $\pm$ 12	40 $\pm$ 4	2 $\pm$ 1

Cette variabilité des indicateurs en fonction des sites apparaît fortement liée aux différences de caractéristiques physico-chimiques des sols, notamment à la teneur en argile du sol qui est significativement corrélée avec chaque variable microbienne mesurée. Ces résultats confirment ainsi la nécessité de disposer, pour chaque type de sol, d'un référentiel de valeurs d'activités enzymatiques et de biomasse microbienne avant d'envisager le développement d'indicateurs de fertilité des sols basés sur ces métriques et de regarder la réponse de ces dernières aux pratiques agricoles.

**Dans un second temps, nous avons pour chaque site expérimental cherché à savoir si les pratiques agricoles, étudiées et mises en place à moyen, voire long terme (apports d'effluents d'élevage, intégration de prairies temporaires, réduction du travail du sol), pouvaient augmenter ou non, l'abondance microbienne et les activités enzymatiques microbiennes intervenant dans la décomposition des MOS.** Pour les deux pratiques (gestion raisonnée de la fertilisation organique et diversification/allongement de la rotation) les plus souvent citées comme susceptibles d'influencer favorablement la fertilité des sols, nos résultats mettent en évidence des comportements différents selon les modalités testées (Figure 41).

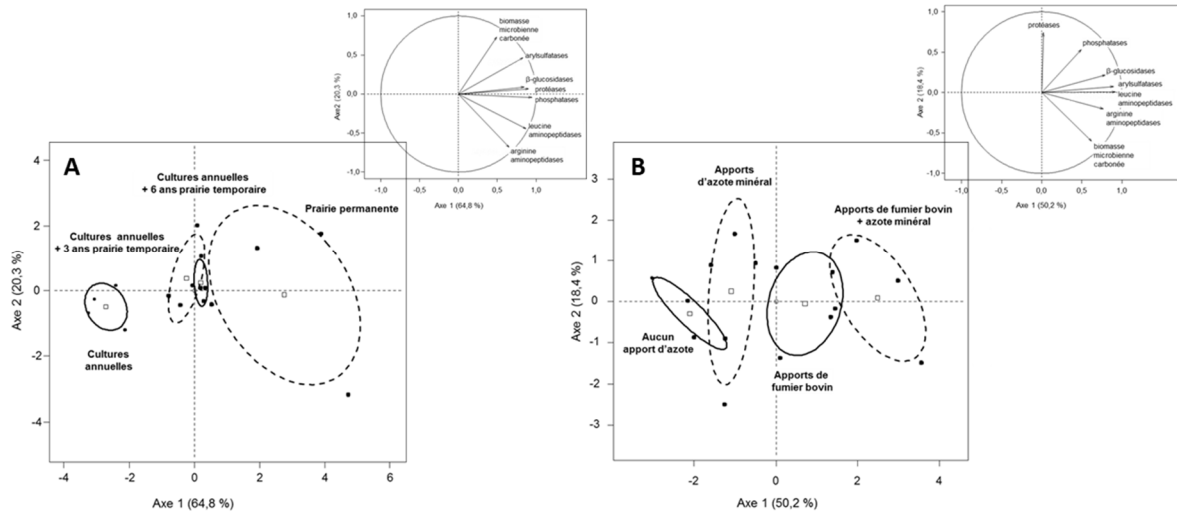


Figure 41 : Analyse en composantes principales (normée) réalisée sur les indicateurs microbiens - biomasse microbienne et activités enzymatiques) mesurées sur différentes parcelles des sites de Lusignan et Colmar

A. Effets de la présence de cultures annuelles, de prairies temporaires ou permanentes sur les 16 parcelles du site de Lusignan avec graphique des individus (à gauche) et cercle des corrélations (à droite) sur le premier plan factoriel

B. Effets des apports de fumier bovin et d'azote minéral sur les 16 parcelles du site de Colmar, PRO'spective, avec graphique des individus (à gauche) et cercle des corrélations (à droite) sur le premier plan factoriel

Pour le dispositif de Lusignan (Figure 41A), les effets des quatre modalités, sur les variables microbiennes mesurées, apparaissent distincts sur le premier plan factoriel de l'ACP. Le premier plan factoriel synthétise 75,1% de l'information contenue dans les données. Le graphique des individus révèle un positionnement différent des systèmes, avec des coordonnées positives selon l'axe 1 pour les prairies permanentes et des coordonnées négatives pour les systèmes de culture à base d'espèces annuelles. **Les sols de prairies permanentes sont caractérisés par des valeurs significativement plus élevées d'activités phosphatases,  $\beta$ -glucosidases, protéases, ARS que les sols des systèmes de culture à base d'espèces annuelles. L'intégration de prairie temporaire (3 ou 6 ans) dans la rotation conduit à des valeurs (moyennes par modalité) de biomasse microbienne et d'activités enzymatiques intermédiaires entre les systèmes de culture avec strictement des espèces annuelles et les prairies permanentes.** Les résultats que nous avons obtenus sur le dispositif de Lusignan montrent, conformément à la littérature, que l'intégration de prairies temporaires dans les systèmes de culture est un levier agronomique pour augmenter la fertilité des sols (cf. la revue Piutti *et al.*, 2015), en favorisant l'augmentation de la teneur en C organique ainsi que le fonctionnement du sol (Attard *et al.*, 2011 ; Murphy *et al.*, 2007 ; Van Eekeren *et al.*, 2008).

Pour le dispositif de Colmar (Figure 41B), les effets des quatre modalités, sur les variables microbiennes étudiées, apparaissent distincts sur le premier plan factoriel de l'ACP. Les parcelles ayant reçu des apports de fumier bovin (non composté), avec ou sans azote minéral, présentent des coordonnées positives sur l'axe 1 contrairement aux parcelles n'en ayant pas reçu. Ces apports de fumier sont à l'origine d'une augmentation significative de la teneur en MOS de 14% (parcelles ayant reçu uniquement des apports de fumier) et de 18% (parcelles ayant reçu des apports de fumier +N minéral) en comparaison avec les parcelles ayant reçu uniquement des apports d'azote minéral. **Nos résultats montrent également une tendance à l'augmentation de la biomasse microbienne de 28% (parcelles ayant reçu uniquement des apports de fumier) et de 50% (parcelles ayant reçu des apports de fumier + N minéral) en comparaison avec les parcelles ayant reçu uniquement des apports d'azote minéral.** Ces résultats sont en accord avec la méta-analyse réalisée par Kallenbach et Grandy (2011) qui met en évidence une augmentation moyenne de 36% de la biomasse microbienne suite à des apports

d'effluents d'élevage. Les apports d'effluents d'élevage ont induit sur le dispositif de Colmar une augmentation de certaines activités enzymatiques microbiennes, conformément à d'autres études (Zhang *et al.*, 2015). En particulier, en comparaison aux parcelles n'ayant reçu aucun apport, les parcelles ayant reçu des apports de fumier + N minéral présentent des activités de décomposition des MOS (leucine aminopeptidases, ARS et  $\beta$ -glucosidases) significativement plus élevées, suggérant un renforcement du fonctionnement microbien des sols de ces parcelles.

**Enfin, pour répondre à la question initiale de l'utilisation d'indicateurs microbiens pour la prédiction de la fertilité des sols en réponse aux pratiques agricoles, nous avons utilisé notre jeu de données pour tester l'influence respective des propriétés physico-chimiques du sol, des variables microbiennes ainsi que des pratiques agricoles sur le potentiel de minéralisation de N du sol (i.e. service écosystémique de fourniture d'N pour la plante).** En effet dans les systèmes de culture, la prévision de la minéralisation de l'azote à partir du pool d'N organique est essentielle pour apprécier la capacité du sol à libérer des formes minérales d'N, essentielles à la croissance des plantes cultivées. Depuis des décennies, plusieurs méthodes biologiques ou chimiques ont été mises au point pour estimer la minéralisation de l'N organique (Ros *et al.*, 2011 ; Wade *et al.*, 2016). Les méthodes biologiques évaluent l'N minéralisable à partir des augmentations nettes de l'N minéral pendant l'incubation des sols en conditions contrôlées (température et humidité), ce qui correspond à la mesure du potentiel de minéralisation de l'azote du sol (NF ISO 14238). Si cette méthode est un estimateur fiable de la capacité de libération d'N minéral par le fonctionnement biologique du sol, la quantification au laboratoire de cette capacité est en général de 2 mois. De ce fait, la recherche a développé des méthodes d'extraction chimique plus rapides pour quantifier des fractions d'N du sol (dissoutes et extractibles) statistiquement corrélées avec la minéralisation nette de N évaluée par les méthodes d'incubation (Ros *et al.*, 2009 ; Curtin *et al.*, 2017 ; Schomberg *et al.*, 2009 ; Sharifi *et al.*, 2007 ; Luce *et al.*, 2011 ; Wade *et al.*, 2016 ; Wang *et al.*, 2001). Cependant, comme le soulignent Curtin et Campbell (2007), la principale limite des méthodes chimiques est qu'en dépit de la quantification de la taille d'un pool, elles ne sont pas capables de simuler la libération de N minéral issu des activités microbiennes de minéralisation. Il est important de considérer la dynamique du pool, qui dépend à la fois de l'accessibilité et de la labilité de ce pool et de l'activité microbienne qui contrôle l'équilibre entre les flux bruts de minéralisation et d'organisation microbienne. **Ainsi pour garantir une prévision fiable de la capacité du sol à fournir des formes minérales d'N, il apparaît nécessaire de proposer une combinaison de mesures incluant des extractions chimiques, des activités enzymatiques et certains facteurs de modulations comme les propriétés physico-chimiques du sol et les pratiques de gestion de l'écosystèmes** (Ros *et al.*, 2011 ; Wade *et al.*, 2016). Une analyse statistique de type PLS-PM a été utilisée sur notre jeu de données. Cette approche PLS-PM (Partial Least Squares Path Modeling) est une méthode statistique permettant de modéliser des relations complexes entre des variables observées et des variables latentes (non observables) (Figure 42).

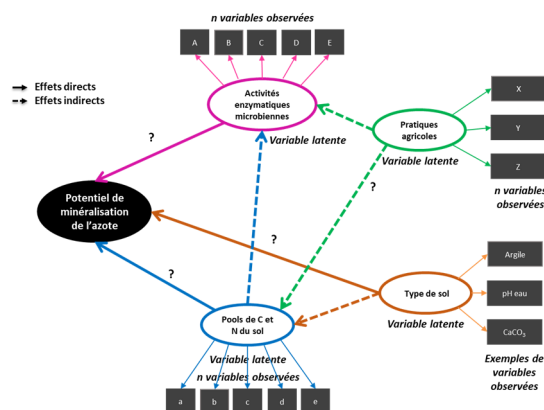


Figure 42 : Architecture du modèle PLS-PM utilisé pour formaliser les relations entre les différentes variables latentes et le potentiel de minéralisation de N



La *figure 43* permet d’apprécier la variabilité intersite et intrasite du potentiel de minéralisation de N, exprimé en % du N total, mesuré sur les sols de 12 sites sur les 15 présents dans le jeu de données. **Le rapport N minéralisé / N total permet d’estimer la proportion d’N du sol réellement disponible pour la plante. Sur l’ensemble des sites les valeurs obtenues sont comprises entre 0,4 et 2,9% ce qui est cohérent avec les valeurs obtenues sur des sols agricoles qui sont généralement de 0 à 4 % (source Auréa).** Pour chaque site la variabilité correspond à des pratiques agricoles différentes tandis que la variabilité entre les sites est certainement liée à des propriétés physico-chimiques et/ou des modes des pratiques agricoles différentes.

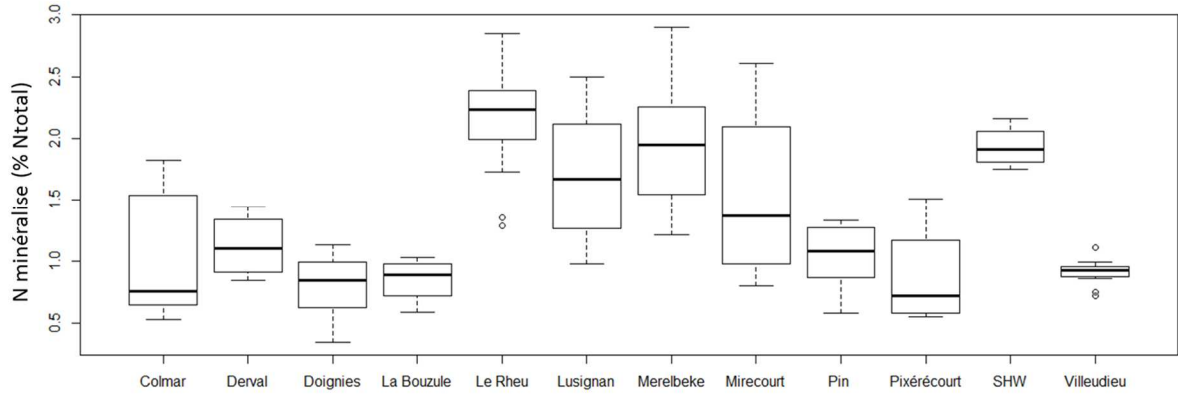


Figure 43 : Potentiel de minéralisation (exprimé en N minéralisé / % Ntotal) mesuré sur les différents sites

Les résultats de l’analyse PLS-PM sont présentés sur la *figure 44*. Les pratiques agricoles étudiées (nombre d’années de prairie temporaire, nombre de labours effectués, quantités d’azote sous forme minéral ou organique) ont un effet indirect sur le potentiel de minéralisation de l’azote, *via* des effets significatifs sur les pools de C et N du sol et sur les activités enzymatiques microbiennes.

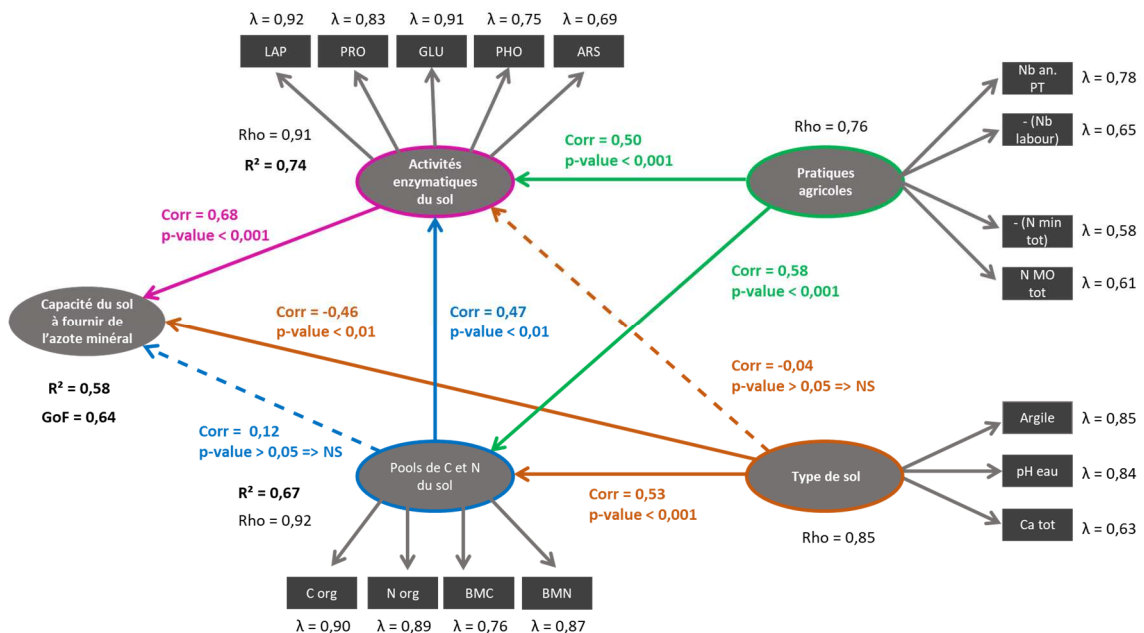


Figure 44 : Relations entre les différentes variables latentes et le potentiel de minéralisation de N



**Caractère innovant de ces travaux et retombées potentielles :**

**Les résultats de ces deux projets montrent que lorsque l'on passe à l'échelle des systèmes de culture, il est essentiel de considérer simultanément les différents filtres écologiques biotiques ou abiotiques susceptibles d'influencer le fonctionnement microbien du sol en lien avec la décomposition des MOS.** La plante qui, au travers de ses traits notamment racinaires, peut moduler les caractéristiques fonctionnelles des communautés microbiennes apparaît à cette échelle d'analyse moins déterminante que les variables pédoclimatiques. **Le SE de fourniture de N et de S est expliqué en partie par les variations d'activités enzymatiques impliquées dans la minéralisation des pools organiques de N et S. Dans les systèmes de culture, en plus des propriétés physico-chimiques du sol, la minéralisation de N est également influencée par les pratiques agricoles, principalement par leurs impacts sur les pools de C et N et sur les activités enzymatiques microbiennes mais aussi par les conditions climatiques dans les jours voire dans les semaines précédant la mesure de ce SE.**

Dans les systèmes d'élevage ou de polyculture élevage, les résultats obtenus confirment que les apports d'effluents d'élevage et l'intégration de prairies temporaires dans les rotations peuvent augmenter significativement les teneurs en MOS et à moyen terme certaines activités enzymatiques microbiennes. Ces pratiques agricoles constituent donc, pour les systèmes d'élevage, des leviers majeurs du fonctionnement microbien des sols au travers du renforcement des teneurs en MOS. Les résultats que nous avons obtenus viennent compléter les études et synthèses précédemment réalisées, en France et à l'étranger, concernant 1) les impacts des pratiques agricoles sur la dynamique des MOS et sur le fonctionnement microbien des sols et 2) la variabilité des activités enzymatiques microbiennes en fonction du contexte pédoclimatique. **Nos résultats confirment la nécessité de disposer, pour chaque type de sol, d'un référentiel de valeurs de variables microbiennes avant d'envisager le développement d'indicateurs microbiens et la création d'outils d'aide à la décision pour les acteurs du monde agricole.** Ces outils aideront le conseil agronomique ayant pour objectif de renforcer (ou maintenir) les teneurs en MOS et d'assurer un compromis entre le stockage de C dans les sols et la fourniture de nutriments pour les plantes cultivées.

Si les pools de C et N apparaissent déterminants pour la prédiction de la fourniture de N pour les plantes, à cette échelle d'analyse, la nature des MOS n'a pas été prise en compte dans le traitement des données en dépit d'essais de caractérisation des MOS réalisés par des techniques soit de fractionnement en partenariat avec l'UMR UREP de Clermont ou de Rock-Eval en partenariat avec l'UMR 8538 - Laboratoire de Géologie de l'ENS. **Si la question du lien entre les différents pools de MOS et le stockage de C est actuellement bien travaillé à l'échelle de la communauté scientifique, il apparaît également essentiel de décliner cette question à d'autres SE rendus par les sols.**

**La valorisation de ces travaux est actuellement encore en cours avec une échéance fixée d'ici la fin d'année pour les deux projets. Si la valorisation dans des revues de transfert et dans de nombreux événements en lien avec les organismes de développement a permis de répondre aux attentes du CNIEL et de l'Idèle sur le projet 2, il n'en reste pas moins important de publier ces résultats dans des revues scientifiques internationales.**

### 3.3- Conclusion générale

Mes travaux de recherche sur la période 2003-2019, basés sur l'hypothèse que le C est un effecteur majeur du fonctionnement microbien, se sont focalisés sur des régions du sol considérés comme des « hot-spots » comme la rhizosphère et la résidusphère. Ces travaux ont permis d'apporter des éléments de compréhension sur les déterminismes des fonctions écologiques du sol en lien avec deux SE des sols (épuration des polluants et fourniture d'éléments minéraux). Ce C libéré par les racines ou présents dans les résidus de culture considéré comme un effecteur majeur des communautés microbiennes présente d'une part des caractéristiques tant en termes de labilité et de nature biochimique très différentes du pool de MOS et d'autre part son accessibilité pour les communautés microbiennes est fortement contrainte par la variabilité spatiale (colonisation de la racine ou des résidus de culture réservé à certains taxons) et temporelle (phénologie de culture et date de restitution au sol).

Si l'on considère l'échelle parcellaire et non plus seulement ces « hot spots », la disponibilité moyenne en C est reflétée par les MOS qui en tant que pilier des composantes physique, biologique et chimique des sols sont au cœur des fonctions que j'ai pu étudier dans le sens où elles agissent à la fois comme un réservoir d'énergie et de nutriments pour les activités microbiennes (en lien avec la décomposition des MOS et la dégradation des polluants organiques) mais aussi comme une matrice susceptible de fixer des éléments minéraux et de piéger molécules complexes comme les polluants organiques (Figure 45).

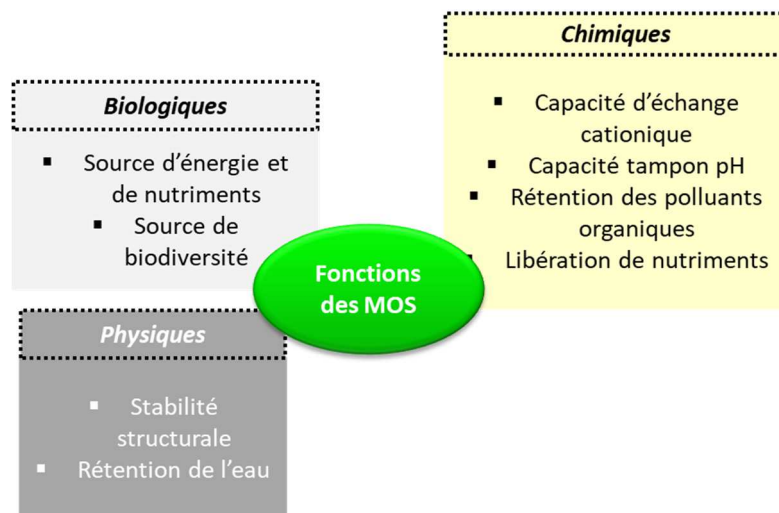


Figure 45 : Les différentes fonctions des MOS

Dans le contexte actuel du "4 pour mille", l'augmentation du C organique *via* les MOS dans les sols agricoles est un enjeu essentiel pour limiter les effets du changement climatique. De ce fait, la sensibilisation du monde agricole vis-à-vis du renforcement des teneurs en MOS semble accrue ces dernières années avec une question récurrente autour de la teneur optimale en MOS selon l'usage des sols et les types de sols. **La recherche d'une teneur optimale en MOS semble pourtant être une gageure pour deux raisons principales :**

- **La teneur optimale dépend de la fonction écologique que l'on considère.** Les sols sont capables d'assurer un grand nombre de fonctions écologiques dont certaines réalisées par les communautés microbiennes pour favoriser la croissance des plantes cultivées (Figure 46).

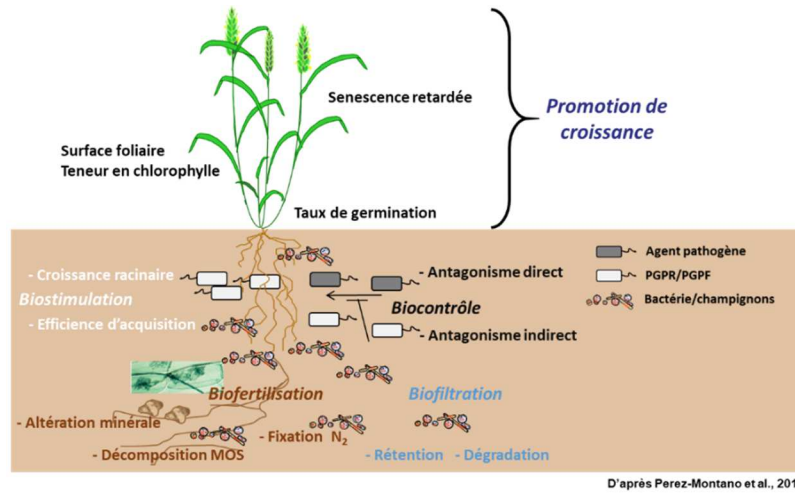


Figure 46 : Les différentes fonctions microbiennes susceptibles d'améliorer la croissance des plantes

Aucune information n'est disponible actuellement dans la littérature concernant les relations entre les teneurs en MOS et le niveau de réalisation des fonctions microbiennes d'intérêt. De façon générale, ces fonctions sont étudiées indépendamment les unes des autres d'où la difficulté dans le contexte actuel de prédire leurs évolutions en réponse aux changements de pratiques occasionnées dans le contexte du "4 pour mille". Rien n'assure ainsi que l'augmentation des stocks de C dans les sols agricoles permettra la même optimisation de l'ensemble des autres fonctions.

- Les fonctions microbiennes dépendent de la teneur en MOS notamment du fait de leur caractère hétérotrophe mais pas seulement. **La qualité biochimique, les paramètres physico-chimiques et les systèmes de cultures que l'exploitant met en place agissent aussi comme des filtres susceptibles de moduler l'abondance, la diversité et l'activité microbienne et in fine les fonctions écologiques réalisés.**

Derrière une teneur en MOS, se cache un pool de molécules plus ou moins complexes d'origine diverse continuellement décomposées par les organismes du sol (notamment *via* des enzymes d'origine microbienne) en formes de plus en plus simple mais présentant une très forte réactivité avec les surfaces minérales du sol (Lehman et Kleber, 2015) (Figure 47).

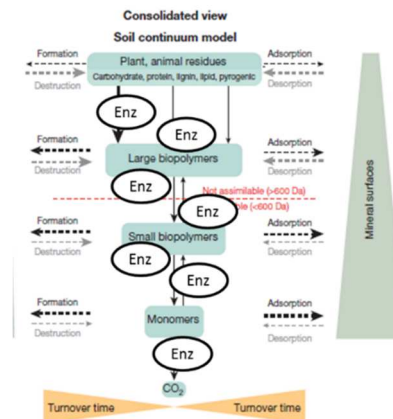


Figure 47 : Modèle de continuum des MOS

Les flèches représentent des processus qui sont fonction de la température, de l'humidité et des communautés biologiques présentes. Les flèches en pointillés indiquent principalement un transfert abiotique alors que les flèches en traits pleins indiquent principalement un transfert biotique. L'épaisseur des flèches en pointillés indiquent des taux plus rapides et la taille des rectangles correspondent à la taille du pool d'éléments considéré

Le modèle conceptuel décrit par Lehman et Kleber (2015) suggère l'existence d'une succession d'étapes conditionnées par une diversité d'enzymes microbiennes permettant une transformation microbienne des polymères complexes d'origine organique (majoritairement présents dans les sols) en molécules de plus en plus simples dont la représentativité dans les MOS est plus faible. Au cours de la décomposition, les molécules libérées peuvent être intégrés dans le métabolisme microbien et du fait d'une augmentation de solubilité peuvent diffuser au sein des agrégats et être ainsi protégées d'une décomposition plus avancée du fait d'une plus grande réactivité vis-à-vis des surfaces minérales.

**Si l'on reprend les différentes fonctions microbiennes indispensables à la croissance des végétaux, il existe peu d'éléments de réponse sur les effets de ce continuum de MOS sur la croissance, la diversité et l'activité des communautés microbiennes portant ces fonctions. Le lien entre la complexité et stabilité de ce pool hétérogène de MOS et le niveau de réalisation des fonctions reste peu abordé dans la bibliographie notamment du fait de la complexité de caractérisation de la nature biochimique et du turn-over des MOS. Aussi dans le contexte de la transition agroécologique des systèmes de production agricole, au-delà de la recherche d'une teneur optimale, il me semble important dans mon projet de recherche pour les années à venir de mieux considérer les interactions entre les MOS et les communautés microbiennes en présence des plantes de façon à tester l'effet de certains leviers agroécologiques sur ces dernières et la résultante en termes de niveau de réalisation de certaines fonctions écologiques notamment en lien avec le service de fourniture d'N et de S des sols.**

### 3.4- Production scientifique et responsabilités administratives

#### Résumé de la production scientifique

33 articles dans des revues internationales de rang A.

4 articles dans des revues de transfert

1 chapitre d'ouvrage

5 conférences invitées

20 communications orales dans un congrès international ou national

45 communications affichées dans un congrès international ou national

2 brevets

#### 3.4.1- Liste des publications dans des revues internationales de rang A

##### 2020

- THOMAS, A., PRIAULT, P., **PIUTTI, S.**, DALLE E., MARRON, N. 2020. Growth dynamics of fast-growing tree species in mixed forestry and agroforestry plantations. *Forest Ecology and Management*, accepté.
- GABA, S., CHEVIRON, N., PERROT, T., **PIUTTI, S.**, GAUTIER, J-L., BRETAGNOLLE V. 2020. Weeds enhance multifunctionality in Arable Lands in South-West of France. *Frontiers in Sustainable Food Systems, Frontiers Media*, 4 (71).

##### 2019

- CLIVOT, H., PETITJEAN, C., MARRON, N., DALLE, E., GENESTIER, J., BLASZCZYCK N., SANTENOISE, P., LAFLOTTE, A., **PIUTTI, S.** 2019. Early effects of temperate agroforestry practices on soil organic matter and microbial activity. *Plant and Soil*, 1-19.
- ROMILLAC, N., **PIUTTI, S.**, AMIAUD, B., SLEZACK-DESCHAUMES, S. 2019. Effects of organic inputs derived from pea and wheat root functional traits on soil protease activities. *Pedobiologia*, 77, 150576.

##### 2018

- SLEZACK-DESCHAUMES, S., **PIUTTI, S.**, ROSELLI, S., L'YVONNET, P. (2018). Biofertilisant bactérien - souche P. Numéro de la demande de brevet : FR1873596 – Dépôt le 20 décembre 2018.
- SLEZACK-DESCHAUMES, S., **PIUTTI, S.**, ROSELLI, S., L'YVONNET, P. (2018). Biofertilisant bactérien - souche M. Numéro de la demande de brevet : FR1873624 – Dépôt le 20 décembre 2018.
- PETITJEAN C., PHILIBERT A., MANNEVILLE V., AMIAUD B., PERRIN A.S., CHARRIER X., GASTAL F., DE Vlieghe A., WILLEKENS K., MONTENACH D., HOUOT S., MORVAN T., **PIUTTI S.** 2018. Systèmes de polyculture-élevage : quels effets des pratiques agricoles sur les teneurs en matières organiques et le fonctionnement microbien du sol ? *Fourrages*, 236, 239-247.

##### 2017

- LOPEZ, S., **PIUTTI, S.**, VALLANCE, J., MOREL, J.-L., ECHEVARRIA, G., BENIZRI, E. 2017. Nickel drives bacterial community diversity in the rhizosphere of the hyperaccumulator *Alyssum murale*. *Soil Biology and Biochemistry*, 114, 121-130.

##### 2016

- DURAND, A., **PIUTTI, S.**, RUE, M., MOREL, J.-L., ECHEVARRIA, G., BENIZRI, E. 2016. Improving nickel phytoextraction by co-cropping hyperaccumulator plants inoculated by plant growth promoting rhizobacteria. *Plant and Soil*, 3 179-192.

##### 2015

- **PIUTTI, S.**, SLEZACK-DESCHAUMES, S., NIKNAHAD GHARMAKHER, H., VONG, P.-C., RECOUS, S., BENIZRI, E. 2015. Relationships between the density and activity of microbial communities possessing arylsulfatase activity and soil sulfate dynamics during the decomposition of plant residues in soil. *European Journal of Soil Biology*, 70, 88-96.

- ROMILLAC, N., **PIUTTI, S.**, AMIAUD, B., SLEZACK-DESCHAUMES, S. 2015. Influence of pea root traits modulating soil bioavailable C and N effects upon ammonification activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 90, 148–151.
  - **PIUTTI, S.**, ROMILLAC, N., CHANSEAUME, A., SLEZACK-DESCHAUMES, S., MANNEVILLE, V., AMIAUD, B. 2015. Enjeux et contributions des prairies temporaires pour améliorer la fertilité des sols. *Fourrages* (223), 179-187.
- 2014**
- LEGAY, N., PERSONENI, E., SLEZACK-DESCHAUMES, S., **PIUTTI, S.**, CLIQUET, J.-B. 2014. Grassland species show similar strategies for sulphur and nitrogen acquisition. *Plant and Soil*, 375 (1-2), 113 - 126.
- 2013**
- CREGUT, M., **PIUTTI, S.**, SLEZACK-DESCHAUMES, S., BENIZRI, E. 2013. Compartmentalization and regulation of arylsulfatase activities in *Streptomyces* sp., *Microbacterium* sp. and *Rhodococcus* sp. soil isolates in response to inorganic sulfate limitation. *Microbiological Research*, 168 (1), 12 - 21.
- 2012**
- GOUX, X., AMIAUD, B., **PIUTTI, S.**, PHILIPPOT, L., BENIZRI, E. 2012. Spatial distribution of the abundance and activity of the sulfate ester-hydrolyzing microbial community in a rape field. *Journal of Soils and Sediments*, 12 (9), 1360-1370.
  - NIKNAHAD-GHARMARKER, H., **PIUTTI, S.**, BENIZRI, E., MACHET, J.-M., RECOUS, S. 2012. Mineralization-immobilization of sulphur in a soil during decomposition of plant residues of varied chemical composition and S content. *Plant and Soil*, 360 (1-2), 391-404.
  - SLEZACK-DESCHAUMES, S., **PIUTTI, S.**, VONG, P.C., BENIZRI, E. 2012. Dynamics of cultivable arylsulfatase-producing bacterial and fungal communities along the phenology of field-grown rape. *European Journal of Soil Biology*, 48, 66-72.
- 2011**
- BOCKSTALLER C., LASSERRE-JOULIN F., SLEZACK-DESCHAUMES S., **PIUTTI S.**, VILLERD J., AMIAUD B. PLANTUREUX S. 2011. Assessing biodiversity in arable farmland by means of indicators: An overview. *OCL - Oléagineux Corps Gras Lipides* 18, 137-144.
- 2010**
- VONG P-C., **PIUTTI S.**, SLEZACK-DESCHAUMES S., BENIZRI E., GUCKERT A. 2010. Effects of low molecular-weight organic compounds on sulphur immobilization and re-mineralization and extraction of immobilized sulphur by hot-water and acid hydrolysis. *European Journal of Soil Science*, 61, 287-297.
- 2009**
- CREGUT M., **PIUTTI S.**, VONG P-C., SLEZACK-DESCHAUMES S., CROVISIER I., BENIZRI E. 2009. Density, structure, and diversity of the cultivable arylsulfatase-producing bacterial community in the rhizosphere of field-grown rape and barley. *Soil Biology and Biochemistry*, 41, 704-710.
- 2008**
- VONG P-C., **PIUTTI S.**, SLEZACK-DESCHAUMES S., BENIZRI E., GUCKERT A. 2008. Sulphur immobilization and arylsulphatase activity in two calcareous arable and fallow soils as affected by glucose additions. *Geoderma*, 148, 79-84.
- 2007**
- BENIZRI E., NGUYEN C., **PIUTTI S.**, SLEZACK-DESCHAUMES S., PHILIPPOT L. 2007. Additions of maize root mucilage to soil changed the structure of the bacterial community. *Soil Biology and Biochemistry*, 39, 1230-1233.
  - VONG P-C., **PIUTTI S.**, BENIZRI E., SLEZACK-DESCHAUMES S., ROBIN C., GUCKERT A. 2007. Water soluble carbon in roots of rape and barley: Impacts on labile soil organic carbon, arylsulphatase activity and sulphur mineralization. *Plant and Soil*, 294, 19-29.
- 2006**



- MARTIN-LAURENT F., BARRES B., WAGSCHAL I., **PIUTTI S.**, DEVERS M., SOULAS G., PHILIPPOT L. 2006. Impact of the maize rhizosphere on the genetic structure, the diversity and the atrazine-degrading gene composition of cultivable atrazine-degrading communities. *Plant and Soil* 282, 99-115.

**2005**

- BENIZRI E., **PIUTTI S.**, VERGER S., PAGES L., VERCAMBRE G., POESSEL J.L., MICHELOT P. 2005. Replant diseases: Bacterial community structure and diversity in peach rhizosphere as determined by metabolic and genetic fingerprinting. *Soil Biology and Biochemistry*, 37, 1738-1746.

**2004**

- MOUNIER E., HALLET S., CHENEY D., BENIZRI E., GRUET Y., NGUYEN C., **PIUTTI S.**, ROBIN C., SLEZACK DESCHAUMES S., MARTIN-LAURENT F., GERMON J-C., PHILIPPOT L. 2004. Influence of maize mucilage on the diversity and activity of the denitrifying community. *Environmental Microbiology*, 6, 301-312.

**2003**

- DI BATTISTA-LEBOEUF C., BENIZRI E., CORBEL G., **PIUTTI S.**, GUCKERT A. 2003. Distribution of *Pseudomonas* sp. populations in relation to maize root location and growth stage. *Agronomie*, 23, 441-446.
- MARTIN-LAURENT F., **PIUTTI S.**, HALLET S., WAGSCHAL I., PHILIPPOT L., CATROUX G., SOULAS G. 2003. Monitoring of atrazine treatment on soil bacterial, fungal and atrazine-degrading communities by quantitative competitive PCR. *Pest Management Science*, 59, 259-268.
- **PIUTTI S.**, SEMON E., LANDRY D., HARTMANN A., DOUSSET S., LICHTFOUSE E., TOPP E., SOULAS G., MARTIN-LAURENT F. 2003. Isolation and characterisation of *Nocardioides* sp. SP12, an atrazine degrading bacterial strain possessing the gene *trzN* from bulk- and maize rhizosphere soil. *FEMS Microbiology Letters*, 221, 111-117.
- ROUSSEAU S., HARTMANN A., LAGACHERIE B., **PIUTTI S.**, ANDREUX F., SOULAS G. 2003. Inoculation of an atrazine-degrading strain, *Chelatobacter heintzii* Cit1, in four different soils: Effects of different inoculum densities. *Chemosphere*, 51, 569-576.

**2002**

- BENIZRI E., DEDOURGE O., DIBATTISTA-LEBOEUF C., **PIUTTI S.**, NGUYEN C., GUCKERT A. 2002. Effect of maize rhizodeposits on soil microbial community structure. *Applied Soil Ecology*, 21, 261-265.
- MARCHAND A-L., **PIUTTI S.**, LAGACHERIE B., SOULAS G. 2002. Atrazine mineralization in bulk soil and maize rhizosphere. *Biology and Fertility of Soils*, 35, 288-292.
- PHILIPPOT L., **PIUTTI S.**, MARTIN-LAURENT F., HALLET S., GERMON J-C. 2002. Molecular analysis of the nitrate-reducing community from unplanted and maize-planted soils. *Applied and Environmental Microbiology* 68, 6121-6128.
- **PIUTTI S.**, HALLET S., ROUSSEAU S., PHILIPPOT L., SOULAS G., MARTIN-LAURENT F. 2002. Accelerated mineralisation of atrazine in maize rhizosphere soil. *Biology and Fertility of Soils*, 36, 434-441.
- **PIUTTI S.**, MARCHAND A-L., LAGACHERIE B., MARTIN-LAURENT F., SOULAS G. 2002. Effect of cropping cycles and repeated herbicide applications on the degradation of diclofop-methyl, bentazone, diuron, isoproturon and pendimethalin in soil. *Pest Management Science*, 58, 303-312.

*3.4.2- Liste des publications dans des revues de transfert (articles, ouvrages, chapitres d'ouvrage, guides techniques, ..)*

- LAFLOTTE A., PACAUD S., DAIGNEUX B., POIRRIER F., GENESTIER J., RAVARD B., LE ROUX Y., **PIUTTI S.** Les digestats permettent-ils, dans un contexte de réduction des intrants de synthèse

d'assurer la productivité et la qualité des fourrages tout en améliorant le fonctionnement biologique des sols ? *En révision pour Agronomie Environnement & Sociétés.*

- PETITJEAN, C., PHILIBERT, A., MANNEVILLE, V., AMIAUD, A., PERRIN, A.S., CHARRIER, X., GASTAL, F., DE VliegHER, A., WILLEKENS, K., MONTENACH, D., HOUOT, S., MORVAN, T., **PIUTTI S.** 2019. Biomasse microbienne et activités enzymatiques microbiennes : gammes de valeurs obtenues pour différents sols agricoles français et belges. *Etudes et gestion des sols.* 26, 81-92.
- LECLECH N, LEGRAND A., BAILLET A., **PIUTTI S.**, LAFLOTTE A., PIERSON P., SEXE M. LAGARDE E., DELAUNE M., SCHOTT F.X. 2018. Analyse de la mise en œuvre de règles de décision de systèmes en production intégrée en Lorraine. *Innovations Agronomiques*, 70, 229-241.
- SLEZACK-DESCHAUMES S., CLIVOT H., PERNOT J., GENESTIER J., BRAUN V., **PIUTTI S.** 2018. Un traitement de semences fongicide à effets biostimulants. *Phytoma*, 718, 35-38.
- **PIUTTI S.**, SCHNELLER C., GUIMONT H.P., AMIAUD B. 2010. Une approche expérimentale sur l'allongement des rotations et l'implantation de bandes enherbées en grandes cultures pour maximiser les services rendus par la biodiversité (végétale et microbienne). *Innovations Agronomiques*, 8, 149-158.

#### 3.4.3- Chapitres d'ouvrage

- GABA S., ALIGNIER A., AVIRON S., BAROT S., BLOUIN M., HEDDE M., JABOT F., VERGNES A., BONIS A., BONTHOUX S., BOURGEOIS B., BRETAGNOLLE V., CATARINO R., COUX C., GARDARIN A., GIFFARD B., LE GAL A., LECOMTE J., MIGUET P., **PIUTTI S.**, RUSCH A., ZWICKE M., COUVET D. 2018. Ecology for Sustainable and Multifunctional Agriculture. *Sustainable Agriculture Reviews, Ecology for Agriculture.* 28, 362.

#### 3.4.4- Conférences invitées

- Piutti S., Martin-Laurent F. 2017. Comprendre et valoriser les interactions pratiques agricoles-plante-micro-organismes du sol pour améliorer la croissance des plantes. Séminaire de recherche du Plan National Dépérissement du Vignoble. Bordeaux, 21 et 22 novembre 2017.
- Marron N., Amiaud B., Epron D., Dallé E., Laflotte A., Piutti S. 2016. Un dispositif agroforestier atelier en Lorraine. Séminaire AgroParisTech Agriculture, forêt : vers un rapprochement? Nancy, France, 7 octobre 2016.
- Slezack-Deschaumes, S., Clivot, H., Braun, V., Borde, O., Piutti, S. 2015. Effect of Vibrance Gold on plant growth and N status of wheat (*Triticum aestivum* L.). European root Health forum, Berlin, Allemagne, 17 & 18 mars 2015.
- Slezack-Deschaumes S., Clivot H., Khiralla A., Roselli S., Braun V., Piutti S. 2016. Effect of Vibrance Gold on plant growth and N status of wheat (*Triticum aestivum* L.). CIS Root Health forum, Minsk, Biélorussie, 29 & 30 novembre 2016.
- Piutti, S. 2014. Les digestats : une réponse à la fertilité des sols dans les systèmes de culture ? Journée d'étude sur le thème du recyclage des ressources fertilisantes et les retombées environnementales du digestat. Projet Interreg IV Ecobiogaz, 9 décembre 2014, Attert, Belgique.

#### 3.4.5- Communications orales dans un congrès international ou national

- Massot B., Milesi S., **Piutti S.**, Bougaud F., Gontier E., Guckert A. 1998. In vitro plant cell engineering. Colloque Biopole/IAPTC, Amiens, décembre 1998.
- **Piutti S.**, Tessier L., Soulas G. 1999. Effet d'une culture de maïs sur l'adaptation à la dégradation rapide de l'atrazine à l'échelle d'une parcelle. 29ème Congrès du Groupe Français des Pesticides, Périgueux, mai 1999.
- **Piutti S.**, Soulas G. 2000. Influence des plantes cultivées sur la dégradation de certains herbicides dans le sol. 30<sup>ème</sup> Congrès du Groupe Français des Pesticides, Reims, mai 2000.

- **Piutti S.**, Martin-Laurent F., Rousseaux S., Hallet S., Lagacherie B., Soulas G. 2001. Effet biostimulant d'une culture de maïs sur la capacité d'un sol à dégrader l'atrazine. 31<sup>ème</sup> Congrès du Groupe Français des Pesticides, Lyon, mai 2001.
- **Piutti S.**, Martin-Laurent F., Hallet S., Rousseaux S., Soulas G. 2001. Molecular analysis of atrazine degrading microbial communities in soil biostimulated with a culture of maize. ISME 9 (International Symposium of Microbial Ecology), Amsterdam, août 2001.
- Wagschal I., **Piutti S.**, Soulas G., Martin-Laurent F. 2002. Isolement et caractérisation physiologique et moléculaire de consortia bactériens dégradant l'atrazine à partir de sol ou de rhizosphère de maïs. 5<sup>ème</sup> Rencontres Plantes-Bactéries, Aussois, janvier 2002.
- **Piutti S.**, Vong P.C., Slezack-Deschaumes S., Benizri E. 2007. Des microbes au service de la nutrition soufrée des plantes : interaction flux de soufre - communautés microbiennes fonctionnelles. Colloque AFEM, 15-18 octobre 2007, La Grande Motte, Montpellier, France.
- Cregut M., **Piutti S.**, Slezack-Deschaumes S., Benizri E. 2008. Régulation de l'activité arylsulfatase chez des bactéries rhizosphériques. 8<sup>ème</sup> Rencontres Plante-Bactéries, Aussois, France.
- **Piutti S.**, Cregut M., Hehn A., Tarnawski S., Slezack-Deschaumes S., Benizri E. 2009. Diversité du gène codant l'arylsulfatase en relation avec la localisation de cette activité chez des bactéries rhizosphériques. Colloque AFEM, 30 août - 2 septembre 2009, Lyon, France.
- Usman M., **Piutti S.**, Niknahad H., Vong P.C., Slezack-Deschaumes S., Recous S., Benizri E. 2009. Effet de l'incorporation de résidus de blé, dans des conditions limitantes en soufre, sur la taille et l'activité des communautés microbiennes du sol impliquées dans la minéralisation du soufre organique. Séminaire Matières Organiques et Environnement, 25-28 janvier 2009, Ste Maxime, France.
- Hamdan L., Slezack-Deschaumes S., **Piutti S.**, Leroux Y., Vong P.C., Benizri E. 2010. Caractérisation fonctionnelle de souches fongiques impliquées dans la minéralisation du soufre organique via l'activité arylsulfatase. Journées Jean Chevaugéon – 8<sup>ème</sup> rencontres de phytopathologie-mycologie, 25-29 janvier 2010, Aussois, France.
- Recous S., Niknahad-Gharmakher H., **Piutti S.**, Machet J.M., Benizri E. 2012. Mineralization-immobilization of sulfur in a soil during decomposition of crop residues varying by their biochemical quality and S content. 4th International Congress Eurosoil, 2-6 Juillet, Bari, Italie
- **Piutti S.**, Slezack-Deschaumes S., Niknahad-Gharmakher H., Vong P.C., Recous S., Benizri E. (2013). Effect of plant residue incorporation on the density and activity of soil microbial communities possessing arylsulfatase activity and on sulfur mineralization. 4<sup>th</sup> International Symposium on Soil Organic Matter, Nanjing, Chine, 5-10 mai 2013.
- Romillac, N., **Piutti S.**, Slezack-Deschaumes S., Amiaud, B. 2013. Effect of diversification of cereal crop rotations on microbial communities mediating N and S mineralization. 4<sup>th</sup> International Symposium on Soil Organic Matter, Nanjing, Chine, 5-10 mai 2013
- Durand, A., **Piutti S.**, Rue, M., Morel, J.-L., Echevarria, G., Benizri, E. 2015. *Phytoremediation assisted with bioremediation to improve nickel phytoextraction by co-cropping hyperaccumulator plants*. 13th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements ICBTE 2015, Fukuoka, Japon (2015-07-12 - 2015-07-16).
- Benizri, E., **Piutti S.**, RUE, M., Durand, A., Morel, J.-L., Echevarria, G. 2015. Enhanced phytoextraction of nickel from contaminated soil by hyperaccumulator plant co-cropping associated with PGPR. In: *Mineral resources in a sustainable world. 13th SGA Biennial Meeting 2015. Proceedings* (p. 1461-1464). Presented at 13. Biennial SGA Meeting, Nancy, FRA (2015-08-24 - 2015-08-27). Vandoeuvre-lès-Nancy, FRA : ASGA Association Scientifique Géologie & Applications.
- Lopez, S., **Piutti S.**, Vallance, J., Morel, J.-L., Echevarria, G., Benizri, E. 2016. Nickel drives the bacterial community diversity in the rhizosphere of the hyperaccumulator *Alyssum murale*. Presented at XXVIII International Mineral Processing Congress, Québec, CAN (2016-09-11 - 2016-09-15).

- Marron, N., Amiaud B., Epron D., Dallé E., Laflotte A., **Piutti S.** 2016. Optimization of productivity and sustainability of intensive cropping systems through symbiotic nitrogen fixation in agroforestry plantations. 3<sup>rd</sup> European AGROFORESTRY Conference, MONTPELLIER, France, 23-25 mai.
- Marron, N., Amiaud B., Epron D., Dallé E., Laflotte A., **Piutti S.** 2017. Optimization of productivity and sustainability of intensive cropping systems through symbiotic nitrogen fixation in agroforestry plantations. Journées d'Ecologie Fonctionnelle, LA GRANDE-MOTTE, France, 28-30 mars.
- **Piutti S.**, Genestier J., Slezack-Deschaumes S. 2017. Etude des interactions entre les plantes et les communautés microbiennes impliquées dans la minéralisation de l'azote et du soufre par des approches fonctionnelles. Colloque national sur le thème "Cycle du soufre et nutrition soufrée: états des connaissances et perspectives". Caen 12 et 13 juillet 2017.

#### 3.4.6- Communications sous forme de posters dans un congrès international ou national

- **Piutti S.**, Gontier E., Massot B., Milesi S., Bourgaud F., Guckert A. 1998. Bioreactor shoot cultures of *Ruta graveolens* for psoralens production. Colloque Biopole/IAPTC, Amiens, décembre 1998.
- Rousseaux S., **Piutti S.**, Hartmann A., Lagacherie B., Soulas G. 2001. Augmentation de la dégradation de l'atrazine dans des sols non adaptés par inoculation avec *Chelatobacter heintzii*. 31<sup>ème</sup> Congrès du Groupe Français des Pesticides, Lyon, mai 2001.
- Martin-Laurent F., **Piutti S.**, Hallet S., Wagschal I., Philippot L., Catroux G., Soulas G. 2001. La PCR compétitive un outil moléculaire permettant de détecter et quantifier les gènes *atzC*, de l'ADNr 16S et 18S d'ADN extrait directement du sol. 3<sup>ème</sup> congrès Rhizosphère, Dijon, novembre 2001.
- Wagschal I., **Piutti S.**, Soulas G., Martin-Laurent F. 2001. Isolement et caractérisation physiologique et moléculaire de consortia bactériens dégradant l'atrazine à partir de sol ou de rhizosphère de maïs. 3<sup>ème</sup> congrès Rhizosphère, Dijon, novembre 2001.
- **Piutti S.**, Martin-Laurent F., Hallet S., Soulas G. 2001. Analyse de la biodégradation accélérée de l'atrazine dans un sol cultivé avec du maïs. 3<sup>ème</sup> congrès Rhizosphère, Dijon, novembre 2001 et 5<sup>ème</sup> Rencontres Plantes-Bactéries, Aussois, janvier 2002.
- Philippot L., **Piutti S.**, Martin-Laurent F., Hallet S., Germon J.C. 2002. Molecular analysis of the nitrate-reducing community structure from bulk and maize planted soil. 17<sup>ème</sup> Congrès mondial de science du sol. Bangkok, août 2002.
- Barrès B., Wagschal I., **Piutti S.**, Devers M., Hallet S., Philippot L., Soulas G., Martin-Laurent F. 2002. Genetic characterisation of atrazine degrading bacterial consortia isolated from maize rhizosphere. COST 631, Vienne, octobre 2002.
- Benizri E., **Piutti S.**, Guckert A. 2002. Impact of growth stages of maize and soil compartments (rhizosphere and bulk soil) on culturable, non-living and total bacteria. COST 631, Vienne, octobre 2002.
- Nguyen C., Catroux G., Abadie J., Benizri E., Chèneby D., Gruet I., Jaillard B., Martin-Laurent F., Mounier E., Philippot L., **Piutti S.**, Quiquampoix H., Robin C., Slezack-Deschaumes S., Souche G. 2003. La rhizosphère, bioréacteur. JEF, Nancy, mars 2003.
- Gruet I., Piutti S., Slezack-Deschaumes S., Nguyen C., Robin C., Mounier E., Martin-Laurent F., Philippot L., Benizri E. 2003. Influence du mucilage de maïs sur la structure et les activités des communautés microbiennes telluriques. JEF, Nancy, mars 2003.
- Mounier E., Abadie J., Gruet I., Martin-Laurent F., Souche G., Piutti S., Chèneby D., Quiquampoix H., Slezack-Deschaumes S., Nguyen C., Robin C., Jaillard B., Benizri E., Philippot L. 2003. Influence du mucilage de maïs sur la structure et les activités de communautés microbiennes fonctionnelles telluriques d'intérêt agronomique. JEF, Nancy, mars 2003.

- **Piutti S.**, Cregut M., Crovisier I., Slezack-Deschaumes S., Vong P.C., Benizri E. 2006. Etudes des communautés bactériennes rhizosphériques impliquées dans la minéralisation du soufre organique. 7<sup>èmes</sup> Rencontres Plantes-Bactéries, Aussois, mars 2006.
- Crégut M., **Piutti S.**, Crovisier I., Slezack-Deschaumes S., Benizri E. 2006. Etude des communautés bactériennes rhizosphériques minéralisant le soufre organique. 4<sup>ème</sup> Rencontre des microbiologistes de l'INRA, Dourdan, juin 2006.
- **Piutti S.**, Cregut M., Crovisier I., Slezack-Deschaumes S., Vong P.C., Benizri E. 2006. Functional study of soil bacterial community implicated in the sulfur mineralisation in the rhizosphere of rape and barley. ISME-11 (International Symposium of Microbial Ecology), Vienne, août 2006.
- Niknahad H., Slezack-Deschaumes S., **Piutti S.**, Machet J.M., Benizri E., Recous S. 2007. Etude de la dynamique du soufre dans le sol associé à la décomposition des résidus végétaux. JNES. 2007
- Cregut M., **Piutti S.**, Slezack-Deschaumes S., Crovisier I., Vong P.C., Benizri E. 2007. Structure and diversity of the cultivable bacterial communities implicated in the esters sulfates mineralisation in three different soils. RHIZOSHERE 2 International Conference, 26-31 August 2007, Montpellier, France.
- Hamdan L., Slezack-Deschaumes S., **Piutti S.**, Cregut M., Vong P.-C., Benizri E. 2007. Characterization of the functional microbial community implicated in sulfur mineralization in the rhizosphere of rape and barley. RHIZOSHERE 2 International Conference, 26-31 August 2007, Montpellier, France.
- **Piutti S.**, Cregut M., Hehn A., Slezack-Deschaumes S., Benizri E. 2007. Molecular tools to follow bacterial community implicated in the mineralization of ester sulfates in rhizosphere soil. RHIZOSPHERE 2 International Conference 26-31 August 2007, Montpellier, France.
- Cregut M., **Piutti S.**, Slezack-Deschaumes S., Crovisier I., Vong P.-C., Benizri E. 2007. Caractérisation des communautés bactériennes rhizosphériques impliquées dans la minéralisation du soufre organique. Colloque AFEM, 15-18 octobre 2007, La Grande Motte, Montpellier, France.
- Hamdan L., Slezack-Deschaumes S., **Piutti S.**, Cregut M., Vong P.-C., Benizri E. 2007. Caractérisation de la communauté fongique impliquée dans la minéralisation du soufre organique sous couvert de colza. Colloque AFEM, 15-18 octobre 2007, La Grande Motte, Montpellier, France.
- Benizri E., **Piutti S.**, Slezack-Deschaumes S., Niknahad H., Machet J.M., Recous S. 2008. Effet de l'incorporation de résidus végétaux sur les communautés bactériennes fonctionnelles impliquées dans la minéralisation du soufre organique des sols. 8<sup>ème</sup> Rencontres Plante-Bactéries, Aussois, France.
- **Piutti S.**, Dupasquier P.E., Benizri E. 2008. Etude de la microflore bactérienne rhizosphérique sous deux variétés de colza à teneurs contrastées en glucosinolates. 8<sup>ème</sup> Rencontres Plante-Bactéries Aussois.
- Vong P.C., **Piutti S.**, Slezack-Deschaumes S., Benizri E., Guckert A. 2008. Effects of glucose on sulphur dynamics in calcareous arable and fallow soils. 5th International Symposium of Interactions of Soil Minerals with Organic Components and Microorganisms (ISMOM 2008).
- Vong P.C., **Piutti S.**, Slezack-Deschaumes S., Benizri E., Guckert A. 2008. Organic fertilizer S in hot-water extract from calcareous arable, fallow and forest soils as affected by different sources of organic carbon additions. 5th International Symposium of Interactions of Soil Minerals with Organic Components and Microorganisms (ISMOM 2008).
- **Piutti S.**, Usman M., Niknahad H., Vong P.C., Slezack-Deschaumes S., Recous S., Benizri E. 2009. Effet de l'incorporation de résidus de blé, dans des conditions limitantes en soufre, sur la taille et l'activité des communautés microbiennes du sol impliquées dans la minéralisation du soufre organique. 10<sup>ème</sup> journées d'études des sols, AFES, Strasbourg, France.
- Slezack-Deschaumes S., Maron P.A., Vong P.-C., **Piutti S.**, Ranjard L., Benizri E. 2009. Identification des fonctions microbiennes associées à la dégradation du soufre organique dans



les sols par une approche de métaprotéomique. 10<sup>ème</sup> journées d'études des sols, AFES, Strasbourg, France.

- Goux X., Amiaud B., **Piutti S.**, Benizri E. 2010. Hétérogénéité spatiale de l'activité arylsulfatase sous couvert de colza. 9<sup>èmes</sup> Rencontres Plantes-bactéries Aussois Janvier.
- Legay N., Personeni E., Slezack-Deschaumes S., **Piutti S.**, Cliquet J.B. 2010. Dynamique du soufre dans le système sol / plantes / biomasse microbienne chez six espèces prairiales différant par leurs stratégies d'acquisition des nutriments. Colloque d'Ecologie, Septembre 2010, Montpellier.
- Clivot, H., **Piutti, S.**, Amiaud, B., Cliquet, J-B., Lemauviel, S., Personeni, E., Slezack-Deschaumes, S. 2013. Relations entre diversité fonctionnelle végétale – diversité microbienne et minéralisation de N/S dans les sols. VIème Colloque de l'Association Française d'Ecologie Microbienne. Clermont-Ferrand, France, 22-25 octobre 2013.
- Romillac, N., **Piutti, S.**, Benkirane, S., Amiaud, B., Slezack-Deschaumes, S. 2013. Dynamique de l'abondance et de l'activité des bactéries protéolytiques lors du développement du pois. VIème Colloque de l'Association Française d'Ecologie Microbienne. Clermont-Ferrand, France, 22-25 octobre 2013.
- Jusselme, M.D., **Piutti, S.**, Dufresne, A., Quaiser, A., Binet, F., Francez, A.J. 2013. Réponses des communautés microbiennes de tourbières soumises expérimentalement à un changement climatique modéré. VIème Colloque de l'Association Française d'Ecologie Microbienne. Clermont-Ferrand, France, 22-25 octobre (2013).
- Gavira C., Deschaumes S., **Piutti S.**, Mignard B., Bourgaud F. 2015. Use of endophytic microorganisms as stimulant agents to produce high level of plant terpenoids. TERPNET, Vancouver, Canada, 1-3 juin 2015.
- Petitjean C., Amiaud B., Manneville V., **Piutti S.** 2015. Fertilité des sols en systèmes bovins laitiers : recherche d'indicateurs microbiologiques et évaluation de l'effet des pratiques agricoles. 12<sup>èmes</sup> Rencontres COMIFER-GEMAS, 18 & 19 novembre 2015, Lyon, France.
- Clivot H., N. Marron, E. Dallé, B. Amiaud, A. Laflotte A., **Piutti S.** 2015. Mise en place d'un dispositif atelier et suivi temporel de l'effet de pratiques agroforestières sur le fonctionnement microbien des sols. Journée d'échange Agroforesteries tempérées, Agroforesteries : quand recherche et terrain collaborent, MARCIAC, France, 29 juillet – 1er août.
- Petitjean C., Amiaud B., Bonetti V., Moretti M., Manneville V., **Piutti S.** 2016. Utilisation de variables microbiologiques pour évaluer l'effet des pratiques agricoles sur la fertilité des sols. 13<sup>èmes</sup> Journées d'Etude des Sols, 05-08 juillet 2016, Louvain-la-Neuve, Belgique.
- Roselli S., Khiralla A., Genestier J., **Piutti S.**, Slezack S. 2016. Effects of Vibrance Gold and Vibrance Duo on wheat growth and Nitrogen content. CIS Root Health forum, Minsk, Biélorussie, 29 & 30 novembre 2016.
- Petitjean C., Manneville V., Amiaud B., Klumpp K., **Piutti S.** (2017) Indicateurs microbiologiques et pools de matières organiques pour évaluer l'impact des pratiques agricoles sur la fertilité des sols. 13<sup>èmes</sup> Rencontres de la fertilisation raisonnée et de l'analyse. 08 et 09 novembre 2017, Nantes, France.
- Petitjean C., Reynaud A., Manneville V., Amiaud B., Klumpp K., Cécillon L., Barré P., Baudin F., **Piutti S.** (2017) Use of microbiological indicators and indices of soil organic matter pools to assess impacts of agricultural practices on soil fertility. 6<sup>th</sup> International Symposium on soil organic matter. 03-07 septembre 2017, Harpenden, Royaume-Uni.
- Petitjean C., Philibert A., Manneville V., Amiaud B., **Piutti S.** (2018) Influence de propriétés des sols et de pratiques agricoles sur le potentiel de minéralisation de l'azote. 4<sup>ème</sup> séminaire ResMO : "La matière organique dans tous ses états". 04-07 février 2018, Trégastel, France
- Slezack-Deschaumes S., Genestier J., Voisin A.S., **Piutti S.** (2018). Influence of pea, lentil and faba bean on soil microbial activities implicated in sulfur and nitrogen mineralization. 20<sup>th</sup> Nitrogen Workshop, Rennes, 25-27 juin 2018.



- **Piutti S.**, Laflotte A., Genestier J., Ravard B., Le Roux Y., Pacaud S. (2018). Les digestats : une réponse à la fertilité des sols dans un contexte de réduction des intrants de synthèse ? Journées Recherche et Innovation Biogaz Méthanisation 2018, Rennes, 2-4 octobre 2018.
- Marron N., **Piutti S.**, Lacroix T., Cochard P., Amiaud B., Cuntz M., Dallé E., Epron D., Laflotte A., Petitjean C., Plain C., Théron O. (2019). Evaluation of alley cropping agroforestry potential in northeastern France. 4<sup>th</sup> World Congress on Agroforestry, Montpellier, 20-22 mai 2019.
- Clivot H., Petitjean C., Genestier J., Blaszczyk N., Laflotte A., Marron N., **Piutti S.** (2019). Effect of alley cropping agroforestry on soil microbial communities. 4<sup>th</sup> World Congress on Agroforestry, Montpellier, 20-22 mai 2019.
- **Piutti S.**, Devers M., Genestier J., Martin-Laurent F., Chauchard S., Amiaud B. (2019). La nature du sol et la composition floristique comme facteurs de modulation de la diversité et de la fonctionnalité des communautés microbiennes en prairies permanentes plus ou moins anciennes. 9<sup>ème</sup> colloque AFEM, Bussang, 5 au 8 novembre 2019.
- Simon T., Maillant S., Slezack-Deschaumes S., **Piutti S.** (2019). Fertilité biologique des sols dans un réseau de fermes lorraines : un suivi sur 3 ans. 14<sup>ème</sup> RENCONTRES de la fertilisation raisonnée et de l'analyse (COMIFER), Dijon, 20-21 novembre 2019.

#### 3.4.7- Communications orales dans des manifestations grand public

- **Piutti S.**, Kuhn, E. (2020). Quel intérêt aujourd'hui pour les variétés historiques de houblon ? Conf'Curieuses Grand Nancy. 12 novembre 2020.
- Petitjean, C., **Piutti S.** (2020). Biodiversité et fertilité des sols. Symposium Européen sur le thème de la biodiversité. Des champs aux produits laitiers : quels liens entre biodiversité et activités laitières ? CNIEL, 13 octobre 2020, Paris.
- **Piutti S.** (2018). Interactions sol-plantes-microorganismes et fertilité des sols agricoles. Table ronde Journée Mondiale des Sols, 3 décembre 2018, Nancy.
- Petitjean C., Amiaud B., Manneville V., **Piutti S.** (2017). Comment l'élevage bovin lait contribue-t-il au maintien et au renforcement de la fertilité des sols ? SPACE, 12-15 septembre 2017, Rennes, France.
- Petitjean, C., Manneville, V., Amiaud, B., **Piutti, S.** (2017). L'élevage laitier, source de fertilité des sols. Grand Angle Lait, 04 avril 2017, Paris.
- **Piutti, S.** (2015). Enjeux actuels autour de la fertilité des sols dans les systèmes agricoles. Journée Sol « Tous concernés : prenons soin de nos sols ! », Sion (54) - Cité des paysages, 9 octobre 2015.
- **Piutti, S.**, Amiaud B. (2012). Une approche expérimentale sur l'allongement des rotations et l'implantation des bandes enherbées en grandes cultures pour maximiser les services rendus par la biodiversité (végétale et microbienne). Salon Agrimax, Metz, 26 octobre 2012.

### 3.5- Liste des projets de recherche

#### 3.5.1- Participation à des programmes de recherche nationaux et internationaux

- **2020-2022** : Projet ANR SAVE "Sargassum Agricultural Valorization and Energy production", 172 k€ pour l'UMR LAE sur la durée du projet.
- **2018-2021** : Projet R&D GRAINE ADEME PotA-GE "Évaluer les potentialités de l'agroforesterie dans le Grand-Est de la France", 128 k€ pour l'UMR LAE sur la durée du projet.
- **2017-2020** : Projet R&D GESIPOL ADEME Piégeachlor "Piégeage des Composés Halogénés Lipophiles Organiques Rémanents", 40 k€ pour l'UMR LAE sur la durée du projet.
- **2016-2020** : Projet Interreg Persephone "Production d'Énergies Renouvelables, Engrais et Produits Harmonieux d'Origines Naturelles", 20 k€ de prestation pour l'UMR LAE sur 4 ans.
- **2016-2020** : Programme PSDR ASTRAL "Acteurs et Services Écosystémiques des Territoires RurAux Lorrains", 5 k€ annuel pour les activités sol de l'UMR LAE.
- **2016-2018** : Projet métaprogramme INRA Ecoserv BIOSERV "Quelle est la contribution de l'agriculture BIOlogique aux SERVICES écosystémiques ? Une analyse multiservices (cycles

*biogéochimiques, régulation, production) à l'échelle des territoires", 18 k€ sur 3 ans pour l'UMR LAE.*

- **2015-2017** : Projet CNIEL/IDELE: "*Fertilité des sols dans les systèmes bovins lait*". Dans le cadre de ce projet, Caroline Petitjean, post-doctorante est accueillie au sein de l'UMR LAE sur la période mars 2015-novembre 2017 (*Porteur : UMR LAE*), 100 k€ de salaire, 10 k€ de fonctionnement annuel pour l'UMR LAE.
- **2011-2012** : Pari scientifique INRA "*Influence de la diversité fonctionnelle des couverts végétaux sur la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes jouant un rôle dans la fertilité N et S des sols*". (*Porteur : UMR LAE, collaboration avec UMR EVA Caen*), 15 k€ annuel pour l'UMR LAE.
- **2010** : Projet CROPA FranceAgriMer "*Effet de l'allongement des rotations en grandes cultures sur la diversité végétale et microbienne : vers une agriculture intégrée (Ferme expérimentale de La Bouzule)*". (*Porteur : UMR LAE*), 10 k€.
- **2006-2009** : Projet APR-MEDD "*Indicateurs pour l'évaluation de l'impact de produits phytosanitaires sur la composante microbienne de la qualité biologique des sols et des systèmes hydriques de surface*".
- **2005-2008** : Appel d'offres Ecoger-Micagro. Programme National coordonné ANR ECCO - ECOSPHERE CONTINENTALE -Risques environnementaux. "*Effet des pratiques de gestion et des modes d'aménagement agricoles et sylvicoles sur les communautés microbiennes intervenant sur la fertilité et la qualité des sols*".
- **2004** : Appel d'offres Astredhor (Centre d'Expérimentation pour la Pépinière Méridionale, Montfavet). Ce programme a regroupé plusieurs centres INRAE ainsi que la Prescription (SRPV) et divers laboratoires universitaires. "*Etude du déterminisme de la "fatigue des sols" en pépinières fruitières*".
- **2001** : Action Concertée Incitative (ACI) "Ecologie quantitative". "*La rhizosphère-bioréacteur : fonctionnement et possibilité de maîtrise*".

### 3.5.2- Contrats ou projets de recherche partenariale

- **2019-2020** : Projet de maturation souches bactériennes à potentialités de biostimulation– Sayens, 180 k€
- **2018** : Prestation de recherche dans le cadre du projet Casdar Microbioterre, 5 k€.
- **2015** : Convention d'étude LAE/Université de Lorraine – Oléon, 4 k€.
- **2014-2016** : Convention d'étude LAE/Université de Lorraine – Syngenta, 70 k€.

### 3.5.3- Expertise de programmes de recherche et activités de review

- Expertise de projets de recherche pour les régions Rhône Alpes (2008), Bourgogne (2009), Languedoc Roussillon (2013), appel à projets de recherche & innovation Ecophyto (2017).
- Review d'articles (en moyenne 6/an) pour les revues Soil Biology and Biochemistry, Agronomy for Sustainable Development, Agronomy, Pedosphere, EMAS, Scientific Reports, Plant and Soil.

## 3.6- Encadrement de la recherche

### 3.6.1- Encadrement de doctorants

**2011 à 2014** : Nicolas Romillac (Ecole Doctorale RP2E) "*Impacts de l'allongement de la rotation sur la diversité des communautés microbiennes et végétales fonctionnelles*" Equipe Agriculture durable UMR UL-INRA Agronomie et Environnement Nancy-Colmar. Co-encadrement 50%.

**2005 à 2009** : Mickaël Crégut (Ecole Doctorale RP2E) "*L'étude des communautés bactériennes rhizosphériques impliquées dans la dynamique du soufre*". Equipe Rhizosphère UMR UL-INRA Agronomie et Environnement Nancy-Colmar. Co-encadrement 50%.

### 3.6.2- Encadrement de post doctorants

**2015-2018** : Encadrement de Caroline Petitjean du 16 mars 2015 au 15 décembre 2017 (33 mois) sur le projet "*Fertilité des sols dans les systèmes bovins lait*" (financement Institut de l'Élevage / CNIEL) puis du 19 mars 2018 au 30 septembre 2018 (6,5 mois) sur le projet PotA-GE).

**2014-2015** : Encadrement d'Hugues Clivot (12 mois de bourse de post-doctorat Fondation de France) sur le projet "*Effets de pratiques agro-forestières en milieu tempéré sur les communautés et activités microbiennes des sols*".

**2013-2014** : Encadrement d'Hugues Clivot (12 mois de bourse de post-doctorat Region Lorraine/UL) sur le projet "*Etude des relations entre diversité microbienne et une fonction écologique impliquée dans le service écosystémique de fertilité des sols agricoles*".

### 3.6.3- Participation à des comités de thèse

#### Comité de thèse

- **2019-2022** : Anaïs GROSJEAN-THOMAS, "Interactions entre espèces en plantations mélangées forestières et agroforestières". Ecole Doctorale SIRENA, UMR SILVA Nancy, Direction de thèse : N. Marron, P. Priault.
- **2018-2021** : Nicolas BRAS, "Consommation de méthane par les sols forestiers : variabilité spatiale des processus physiques et biotiques impliqués en vue d'estimer le puits des forêts du Grand Est". Ecole Doctorale SIRENA, UMR SILVA Nancy, Direction de thèse : D. Epron, C. Plain.
- **2010-2013** : Rim MAOUGAL, "*Contribution des phytases bactériennes à l'adaptation de Phaseolus vulgaris à la faible disponibilité en phosphore*", Ecole doctorale : Systèmes Intégrés en Biologie, Agronomie, Géosciences, Hydrosociétés et Environnement (SIBAGHE). Thèse en co-tutelle entre l'UMR Eco&Sols IRD-INRA-Supagro Montpellier et l'Université Mentouri Constantine Algérie. Direction de thèse : J.J. Drevon, A. Brauman.
- **2009-2012** : Aurélien GICQUEL, "*Impact des changements globaux sur le fonctionnement des tourbières : couplage C-N-S et interactions biotiques*", Ecole doctorale Vie-Agro-Santé, UMR 6553 ECOBIO Rennes, Ecosystèmes-Biodiversité-Evolution, Direction de thèse : A.J Francez, F. Binet.
- **2004-2007** : Najoi EL AZHARI, "*Estimation du potentiel génétique hydroxylant d'un sol par PCR quantitative : un nouvel outil d'évaluation et de prédiction de la pollution d'un sol par des micropolluants organiques*", Ecole doctorale : Buffon - Images et Modélisation des Objets Naturels, UMR Agro-écologie, Dijon. . Direction de thèse : Fabrice Martin-Laurent.

#### Jury de thèse :

- Doctorat Sarah Yehya (22 décembre 2017), examinateur. "*Modulation de l'absorption intestinale de la chlordécone (CLD) par l'utilisation de substances séquestrantes. Application à l'élevage en zones contaminées*". Doctorat de l'Université de Lorraine, spécialité : Sciences Agronomiques, Unité de Recherche Animal et Fonctionnalités des Produits Animaux (UR AFPA), Nancy. Ecole Doctorale Sciences et Ingénieries des Ressources, Procédés, Produits et Environnement (RP2E).
- Doctorat Ramez Saad (3 novembre 2017), examinateur. "Agromine associant plantes hyperaccumulatrice de nickel et légumineuse, comme service écosystémique des sols ultramafiques", Doctorat de l'Université de Lorraine, spécialité : Sciences Agronomiques, UMR Sols et Environnement, Nancy. Ecole Doctorale Sciences et Ingénieries des Ressources, Procédés, Produits et Environnement (RP2E).
- Doctorat d'Aurélien Gicquel (27 juin 2012), examinateur. "*Impact des changements globaux sur le fonctionnement des tourbières : couplage C-N-S et interactions biotiques*", Doctorat de l'Université Rennes 1, UMR 6553 ECOBIO, Ecosystèmes-Biodiversité-Evolution.

### 3.6.4- Encadrement de stagiaires

#### Niveau BTS DUT

**2020** : Ianis Fortin (Biologie Appliquée, IUT Nancy, 11 semaines). Effets des systèmes agroforestiers sur des indicateurs de fonctionnement des sols : approche spatialisée.

**2016** : Valentin Bonetti (Biologie Appliquée, IUT Nancy, 12 semaines). Etude de l'impact de pratiques agricoles sur des variables microbiennes.

**2014** : Amalia Sayed (Biologie Appliquée, IUT Thionville, 10 semaines) portant sur le rôle de la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes du sol et la fonction de minéralisation du soufre organique.

**2013** : Sara Benkirane (Biologie Appliquée, IUT Thionville, 10 semaines) portant sur les effets direct et indirect du pois sur les communautés microbiennes fonctionnelles impliquées dans la minéralisation de l'azote organique des sols.

**2012** : Thomas Mogenot (Biologie Appliquée, IUT Thionville, 10 semaines) portant sur l'influence de différentes espèces végétales prairiales sur la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes jouant un rôle dans la fertilité N/S des sols.

**2009** : Mathilde Fournier (Biologie Appliquée, IUT Thionville, 10 semaines) portant sur l'impact du couvert végétal sur la microflore totale et fonctionnelle du sol.

**2004** : Sophie Blaise (Biologie Appliquée, IUT Thionville, 10 semaines) portant sur l'évolution de la diversité de la microflore bactérienne du maïs au cours de la phénologie.

#### Niveau M1

**2019** : Nicolas Leflon (Master 1 FAGE). Effets des systèmes agroforestiers sur le fonctionnement microbien du sol.

**2016** : Nicolas Blaszczyk (Master 1 FAGE). Suivi des communautés du sol en termes d'abondance, diversité et activité dans une plantation agroforestière.

**2015** : Christophe Gillet (Master 1 FAGE). Impact des changements de système sur la densité et la diversité d'adventices de grandes cultures : Projet EXPE Ecophyto 2018.

**2014** : Thibaud Eve (Master 1 FAGE) portant sur le suivi de la pression adventices, maladie et ravageurs sur une parcelle d'essai du réseau EXPE Ecophyto Lorrain Grandes Cultures : quel impact de l'allongement de la rotation sur les bio-agresseurs ?

**2014** : Marion Reynaud (Master 1 FAGE) portant sur la cartographie des communautés microbiennes du sol en termes d'abondance et d'activité en plantation agroforestière composée de mélanges d'espèces fixatrices / non fixatrices d'azote.

**2007** : Pierre-Emmanuel du Pasquier (Master 1 BIP, Université Orsay) portant sur l'effet de la production différentielle de glucosinolates chez différentes variétés de colza (*Brassica napus*) sur les communautés microbiennes impliquées dans la minéralisation du soufre organique.

#### Niveau M2 (ex-DEA)

**2018** : Fanny Poirrier (Mémoire de fin d'étude Ingénieur AgroSup Dijon) portant sur les effets des digestats sur des indicateurs de fonctionnement microbien du sol en lien avec la décomposition des matières organiques sous prairies.

**2015** : Séverine Lopez (Master 2 BioMANE, UL) portant sur l'étude de l'abondance et de la diversité des communautés bactériennes issues des rhizosphères de plants d'Alyssum murale. Co-encadrement avec le LSE.

**2014** : Benjamin Ravard (Master 2 FAGE UL) portant sur l'effet des digestats (fraction sèche et fraction liquide) sur des indicateurs de fonctionnement biologique du sol en lien avec le service de fertilité.

**2009** : Xavier Goux (Master 2 FAGE, ENSAIA-INPL) portant sur l'étude de l'hétérogénéité spatiale de l'activité arylsulfatase sous couvert de colza.

**2008** : Muhammad Usman, (Master 2 FBC, AgroParisTech) portant sur "effect of incorporation of wheat residues in soil under sulfur limiting conditions on the size and activity of bacterial community involved in the mineralization of organic sulphur".

**2006** : Clara Simon (Master 2 FAGE, ENSAIA-INPL) portant sur l'étude des communautés bactériennes impliquées dans la minéralisation du soufre.

**2004** : Pascale Sabatier (Sciences Agronomiques, ENSAIA) portant sur la microflore rhizosphérique : des exigences particulières en termes de substrat carboné.

**2003** : Ivan Gruet (DEA Sciences Agronomiques, ENSAIA) portant sur l'effet du mucilage du maïs sur la taille, la structure et la diversité des communautés bactériennes du sol.

**2002** : Assia Belhadj (DEA Sciences Agronomiques, ENSAIA) portant sur l'effet de l'inoculation d'une bactérie d'intérêt agronomique sur la structure génétique des bactéries indigènes présentes dans la rhizosphère.

**2001** : Isabelle Wagschal (DEA Biochimie, Biologie cellulaire et moléculaire, Université de Dijon) concernant l'isolement et la caractérisation physiologique et moléculaire de consortia bactériens dégradant l'atrazine à partir de sol nu ou de rhizosphère de maïs.

**1999** : Anne-Laure Marchand (DEA Sciences Agronomiques, ENSAIA) concernant l'impact du maïs (*Zea mays* L.) sur la microflore du sol capable de dégrader l'atrazine.

### **3.7- Responsabilités administratives et scientifiques :**

#### Niveau national

- Représentante pour l'ENSAIA au sein du groupe thématique "Agroécologie" d'Agreenium depuis janvier 2020.
- Membre de la commission d'évaluation HCERES de l'UR CIRAD AIDA, Montpellier, 30-31 janvier 2020.
- Membre nommé à la CNECA 5 depuis 2018
- Membre de la commission d'évaluation AERES de l'UR CIRAD AIDA, Montpellier, 16-17 janvier 2014.
- Membre de la commission d'évaluation AERES de l'UMR 950 INRA/Université de Caen Basse Normandie Ecophysiologie Végétale, Agronomie & Nutritions N, C, S (EVA), 15 mars 2011.

#### Niveau régional

- Membre depuis 2013 du collège des experts de la commission agri-mieux de l'Agence de l'Eau Rhin Meuse. Examen du bilan d'une ou de deux opérations / an.

#### Niveau Université de Lorraine

- Depuis septembre 2020 : Membre du comité scientifique de la chaire de mécénat Agrométhas (ENSAIA/UL).
- Depuis janvier 2020 : Membre fondateur de la chaire de mécénat Bio4solutions (ENSAIA/UL).
- Depuis janvier 2020 : Responsable du service d'enseignement Sciences Végétales de l'ENSAIA.
- Depuis 2016 : Membre élu du pôle scientifique A2F.
- 2007-2016 : Membre du comité de direction de l'ENSAIA avec différentes missions, Chargée des spécialisations et Master (2007-2010), chargée du développement durable (2011), chargée des activités de recherche et développement à la Bouzule entre 2012 et 2016.
- 2016 : Membre du comité de sélection de recrutement de maître de conférences (emploi N° 68-MCF-0769).
- 2014 : Membre du comité de sélection de recrutement de maître de conférences (emploi N° 68-MCF-0535).
- 2013 : Membre du comité de sélection de recrutement de maître de conférences (emploi N° 68-MCF-0371).
- Depuis 2005 : Membre de la commission d'admission sur titre en 2<sup>ème</sup> année, filière agronomie de l'ENSAIA.

#### Niveau UMR LAE

- Depuis septembre 2020 : Participation active, en tant que future codirectrice adjointe, à la réflexion sur les contours du projet de l'UMR pour le prochain contrat quinquennal 2023-2027.
- Depuis 2016 : Responsable hiérarchique de Julie Genestier, Technicienne de Recherche au laboratoire.

- 2006-2011 : Responsable H et S pour l'unité.

### **3.8- Activité d'expertise en lien avec le développement**

Du fait des réflexions agronomiques que je développe en enseignement (notamment dans les projets thématiques avec les étudiants de spécialisation) et en recherche et, je suis sollicitée au niveau régional pour différentes expertises.

- **2019-2024** : implication dans le projet XPE-GE du Réseau EXPE Ecophyto II en tant que prestataire pour des analyses de fonctionnement microbien sur les plateformes d'essai du réseau.
- **2016-2020** : Membre du groupe de réflexion sur les évolutions d'ici 2020 de la ferme Arvalis de Saint Hilaire en Woëvre (55) autour de la recherche de complémentarité des systèmes en polyculture élevage au service de la fertilité (physique, chimique et biologique) des sols.
- **2015-2018** : Suivi des actions de deux groupes d'exploitants agricoles labélisés GIEE (ADAM et MAGIEE) en Lorraine, notamment sur les aspects relevant d'une part du fonctionnement biologique des sols dans un contexte d'adaptation des pratiques agricoles pour une transition vers l'agriculture de conservation et d'autre part de l'utilisation de produits de traitement alternatifs (biostimulants/biocontrôle).
- **2012-2017** : Référente au titre de l'ENSAIA pour les essais menés sur la ferme expérimentale de la Bouzule (ENSAIA/UL) dans le cadre du réseau EXPE lorrain Ecophyto Grandes cultures, financé par le Ministère de l'Agriculture (participation aux réunions avec les différents partenaires du réseau, écriture des règles de décision en interaction avec le responsable de la ferme expérimentale de la Bouzule et rédaction des rapports annuels).
- **2012-2014** : Expertise agronomique dans le cadre du projet de recherche et développement Biofongi mené avec l'IFBM et ARD visant à évaluer l'efficacité d'un agent microbien de biocontrôle sur la fusariose de l'épi.
- **2012-2013** : Expertise sur la potentialité agronomique des sols de la vallée de Baigneaux (Baignolet, Eure-et-Loir, 28) et de la Vallée de la Tille (Cessey-sur-tille, Côte d'or, 21) dans le cadre d'un projet de construction d'une centrale solaire photovoltaïque au sol (Société Lumiter).



**PARTIE 2 : PROJET DE RECHERCHE**

**4- Comprendre et piloter les interactions MOS-communautés microbiennes-plantes pour renforcer la disponibilité et l’efficacité d’utilisation des éléments minéraux (N et S) dans les agroécosystèmes**

**4.1- Introduction**

Sur la période 1960-2000, l’augmentation d’un facteur 2 de la productivité des céréales à l’échelle mondiale a été associée à un recours accru à un ensemble d’intrants de synthèse (i.e. engrais chimiques, produits phytosanitaires) (Tilman *et al.*, 2001). Cependant, la faible efficacité d’utilisation des éléments minéraux contenus dans les engrais chimiques de synthèse par les cultures (entre 33 et 36% pour l’N si l’on considère les céréales selon Ladha *et al.*, 2005) ainsi que certaines pratiques de fertilisation non raisonnées sont à l’origine de contaminations de différents compartiments de l’environnement (air, eau) et d’une altération de la biodiversité dans les agrosystèmes. **Dans ce contexte, un changement de paradigme est nécessaire, avec le développement de systèmes de production agricole s’appuyant sur une intensification des processus écologiques et des SE plutôt que sur le recours à des intrants de synthèse. Cette transition agroécologique doit permettre de concevoir des systèmes de culture innovants et économiquement résilients en réponse à des enjeux socio-territoriaux divers et spécifiques tels que, l’assurance de la souveraineté alimentaire, la recherche d’autonomie énergétique, la maximisation de services écosystémiques et la limitation des impacts environnementaux.**

Dans cette transition agroécologique, le sol occupe une place essentielle du fait des nombreux SE qu’il fournit (*Figure 48*). **La teneur et la qualité des MOS ainsi que la biodiversité font partie des propriétés des sols à considérer dans le cadre des SE du sol.**

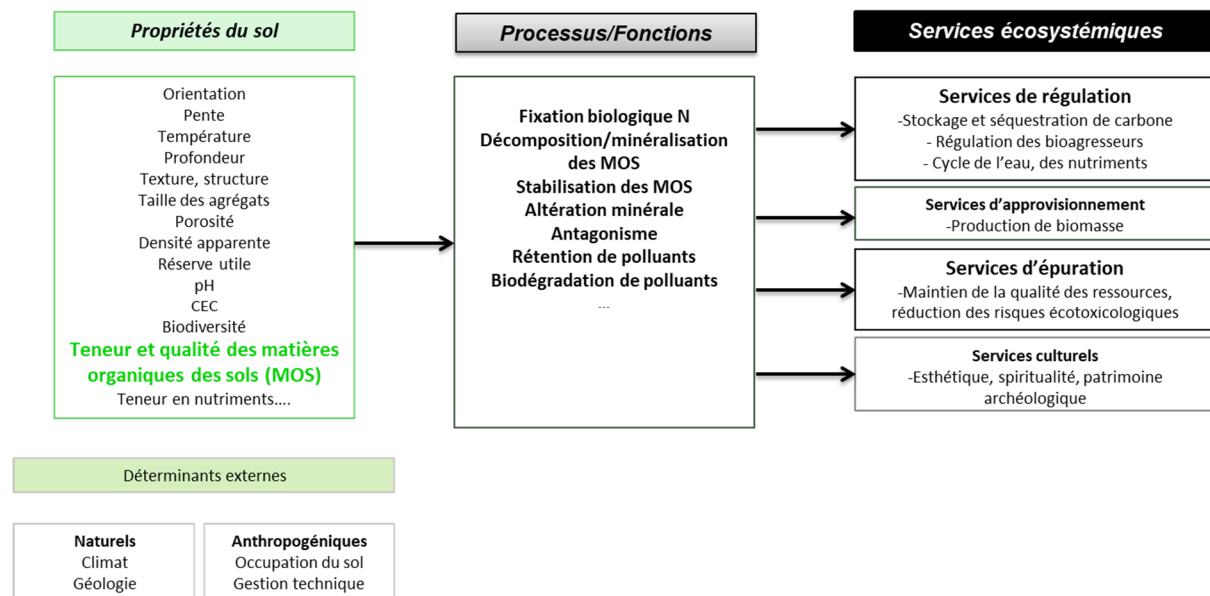


Figure 48 : Schéma conceptuel des SE rendus par les sols (d’après Dominati *et al.*, 2010 ; Adhikari *et Hartmink*, 2016)

**Le service de régulation qui sera ciblé dans le cadre de ce projet de recherche correspond à la capacité du sol à assurer la fourniture et l’interception d’éléments minéraux pour permettre la croissance et le développement des plantes cultivées.** Les bénéfices attendus pour l’agriculteur et la

société civile sont respectivement une réduction des charges d'engrais de synthèse et une amélioration de la qualité des ressources naturelles. L'amplification de ce service de régulation en vue d'un recours plus limité à des engrais de synthèse repose notamment sur un renforcement de :

(i) la capacité intrinsèque du sol à fournir des éléments minéraux *via* une optimisation, au travers du fonctionnement microbien, du recyclage interne des éléments entre les pools organiques et inorganiques (Drinkwater et Snapp, 2007). **Le niveau de cette capacité dépend la résultante des interactions entre les MOS et les communautés microbiennes sous le contrôle des facteurs abiotiques et biotiques (notamment de l'activité racinaire de la plante).**

(ii) l'efficacité d'utilisation des éléments minéraux par les plantes en jouant sur la modulation des caractéristiques fonctionnelles des plantes notamment au niveau racinaire (Garnett *et al.*, 2009). **Cette efficacité est la résultante des interactions entre les communautés microbiennes et les traits racinaires des plantes sous le contrôle des facteurs abiotiques.**

**L'étude des interactions entre les MOS, les communautés microbiennes et les plantes est au cœur de mon projet de recherche. Il s'agira d'améliorer notre compréhension actuelle de ces interactions au travers de la caractérisation de variables biophysiques et de leur contribution aux processus impliqués dans le service de régulation étudié.** Cette étape de compréhension ne reposera pas sur une description taxonomique exhaustive des communautés microbiennes mais sur la mobilisation d'indicateurs en lien avec la décomposition/minéralisation des MOS déjà utilisés dans mes activités de recherche et d'autres qui seront développés pour aborder plus spécifiquement le volet d'efficacité microbienne d'utilisation du C et des éléments minéraux.

Les systèmes d'étude envisagés sont des agroécosystèmes et notamment ceux répondant aux caractéristiques des systèmes de culture plus ou moins diversifiés en termes de succession végétale et de pratiques agricoles. Cette orientation vers ces systèmes de culture, plutôt que vers des peuplements plurispécifiques tels que les prairies naturelles, s'est faite dans la continuité de mes activités passées mais aussi du fait des enjeux conséquents qui reposent actuellement sur ces systèmes en regard de la réussite attendue de leur transition agroécologique. **En effet, au-delà de l'amélioration de notre compréhension des interactions MOS-microorganismes-plantes, il s'agira aussi de voir dans quelle mesure les leviers agroécologiques pourraient amplifier ces interactions pour aboutir à une résultante nette positive en termes de fourniture et d'efficacité d'utilisation de N et S dans le système sol-plante.**

Parmi les leviers agroécologiques proposés dans le cadre global de la transition agroécologique et sur lesquels la conception de systèmes agricoles pourrait s'appuyer pour un renforcement de cette fonction de régulation du sol, deux grandes catégories peuvent être citées (Thérond *et al.*, 2017) :

- **L'utilisation de bio-intrants en substitution partielle des intrants chimiques (biological input-based farming system).** Les bio-intrants s'appuient sur des interactions et/ou mécanismes naturels susceptibles d'améliorer la disponibilité et l'efficacité d'utilisation des nutriments ainsi que la tolérance aux stress abiotiques et biotiques (Du Jardin, 2015). Actuellement d'un point de vue législatif, ils se déclinent en deux grandes catégories, les solutions de biocontrôle et les biostimulants (dont les biofertilisants). **Dans le cadre de ce projet de recherche, les biostimulants considérés seront des MO exogènes de type digestats de méthanisation.** Le choix de ces MO exogènes est intéressant car il peut permettre selon leurs conditions d'obtention de faire varier la nature du C et/ou les ratio C :N des digestats incorporées dans les sols.
- **L'utilisation de la biodiversité naturelle et planifiée et des services associés (biodiversity-based farming system).** L'utilisation de ce levier dans mon projet de recherche consistera à augmenter le niveau de diversité taxonomique et fonctionnelle des peuplements agricoles au travers d'associations d'espèces différentes. **Le modèle choisi sera les associations entre les essences forestières et les espèces herbacées (annuelles ou pluri-annuelles)** dans le cadre de l'étude des systèmes agroforestiers en région Grand Est.

Quelle que soit la catégorie de leviers considérés pour la transition, il sera essentiel d'envisager leur intégration en prenant en compte les caractéristiques techniques des systèmes étudiées (modèle agricole, orientation technico-économique, système de culture...) ainsi que les conditions pédoclimatiques.

**Les objectifs du projet de recherche, que je souhaite développer dans les années à venir, visent ainsi à comprendre et piloter, grâce à des leviers agroécologiques, les interactions MOS-communautés microbiennes-plantes pour renforcer ce service de régulation dans les systèmes agricoles et contribuer à améliorer le bouclage des cycles biogéochimiques, plébiscité par la transition agroécologique pour limiter les pertes et maîtriser des impacts environnementaux négatifs des pratiques agricoles.**

**Les modèles agricoles qui serviront de support aux questions de recherche envisagées devront répondre à différents critères :**

- **Intégration de pratiques d'intensification écologique mais sans forcément exclure les intrants de synthèse ce qui permet de conserver un gradient de systèmes plus large sans restreindre à des systèmes en agriculture biologique,**
- **Fertilisation organique à base de produits résiduaux organiques (PRO),**
- **Maximisation de la couverture du sol et des entrées de C dans les sols *via* le fonctionnement racinaire et les litières aériennes,**
- **Utilisation d'associations inter ou intraspécifiques.**

**Le choix des pratiques agricoles citées s'appuie sur les résultats obtenus antérieurement dans le cadre de mes activités de recherche considérant les MOS comme un pilier de la fertilité des sols et donc comme un effecteur majeur du service de régulation ciblé dans ce projet.**

***La présentation de mon projet de recherche est structurée en trois parties :***

- **la première partie correspond à une synthèse bibliographique permettant d'une part de positionner la stœchiométrie écologique comme un cadre conceptuel général d'étude des interactions entre les MOS et les communautés microbiennes et d'autre part de positionner les effets des deux catégories de leviers agroécologiques envisagés dans ce projet (bio-intrants et biodiversité) sur les communautés microbiennes impliquées dans le service de régulation ciblé.**
- **la seconde partie vise à étudier les effets des digestats de méthanisation sur l'efficacité d'utilisation de N par les plantes cultivées et sur le fonctionnement microbien des sols et la résultante à court et moyen terme sur le bouclage des cycles C et N.**
- **la troisième partie concerne l'utilisation d'associations végétales pour renforcer le bouclage des cycles N et S au travers d'une optimisation du recyclage de nutriments (N et S) et de leur efficacité d'utilisation par les plantes. Il s'agira notamment d'identifier les rôles directs et indirects des communautés microbiennes dans les interactions plante-plante.**

## 4.2- La stœchiométrie écologique, un cadre conceptuel pour mieux comprendre les interactions entre les MOS et les communautés microbiennes ?

### 4.2.1- Notions de stœchiométrie microbienne

La biomasse microbienne ne représente qu'une très faible proportion (<5%) du C organique des sols (Anderson et Domsch, 1989) variant à l'échelle globale selon les grands biomes de 1,16% en forêt tempérée de feuillus, 1,79% en forêt tropicale à 2,09% en prairies (Xu *et al.*, 2013) et 2,9% en culture annuelle (Anderson et Domsch, 1989). **Elle conditionne deux processus clé de dynamique des MOS essentiels dans le contrôle des flux de C à l'échelle terrestre :**

- **Processus cataboliques *via* la synthèse d'enzymes extracellulaires qui libèrent du CO<sub>2</sub> vers l'atmosphère à partir des litières végétales et autres sources organiques.** C'est au cours de ce processus que sont libérées les éléments minéraux qui peuvent servir à la croissance des plantes.
- **Processus anaboliques qui permettent la synthèse de composés microbiens susceptibles d'augmenter la stabilisation du C et donc de diminuer les flux de C vers l'atmosphère.** L'anabolisme microbien qui permet une intégration dans la MOS de C dérivé des composés microbiens (turnover de la biomasse et accumulation de nécromasse) est un des principaux éléments de stockage de C dans les sols (Liang *et al.*, 2017). Ainsi la nécromasse microbienne (en grande partie fongique) pourrait représenter entre 55,6% et 61,8% du C organique respectivement en sols cultivés et prairiaux en climat tempéré (Liang *et al.*, 2019).

C'est au cours de ces deux processus que les communautés microbiennes organisent aussi *via* leur métabolisme les autres éléments limitants leur croissance sous forme organique (processus d'immobilisation microbienne), ce qui permet **d'assurer le recyclage des éléments nutritifs entre la plante et le sol.**

Du fait de leur caractère hétérotrophe, les communautés microbiennes ont besoin de C pour leur croissance et développement mais aussi d'éléments minéraux essentiels notamment N, P et S. Sterner et Elser (2002) ont proposé un modèle conceptuel décrivant la relation stœchiométrique entre un organisme et le milieu dans lequel il se développe (Figure 49).

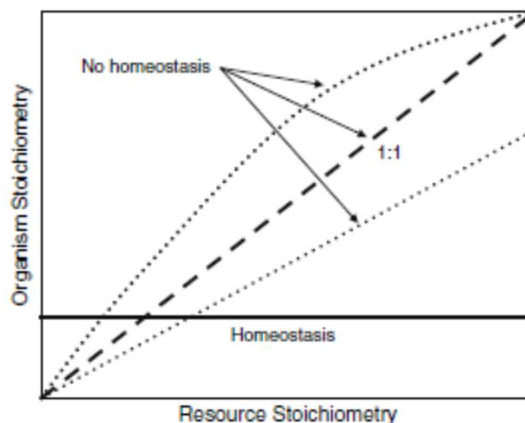


Figure 49: Modèle conceptuel de stœchiométrie

Les organismes peuvent être caractérisés par une homéostasie stricte dans le cas où les changements de stœchiométrie des ressources du milieu ne modifient pas la stœchiométrie des organismes dont croissance est régulée par les nutriments les plus limitants. Dans certains cas, un organisme peut ajuster sa stœchiométrie en fonction des changements du milieu conduisant à une situation de non homéostasie. L'équilibre stœchiométrique d'un environnement ou d'un organisme est généralement révélé par le ratio entre le C et les éléments minéraux essentiels au métabolisme (notamment N, P voire S). Bien qu'essentiel, l'élément S n'est que peu travaillé par la communauté scientifique ce qui

explique que de données de stœchiométrie dans les sols n'intègre que peu cet élément. Même si les sols selon leur mode d'occupation présentent des disponibilités très variables en éléments minéraux, les ratios C :N :P sont extrêmement conservés dans les sols (186 :13 :1 en moyenne) et d'autre part dans la biomasse microbienne (60 :7 :1 en moyenne) (Cleveland et Liptzin, 2007). **Cette stœchiométrie de la biomasse microbienne peut varier selon le mode d'occupation des sols (Mooshammer *et al.*, 2014a), le type de végétation (Hartman et Richardson, 2013) mais aussi selon les équilibres microbiens, les ratio C:N étant entre 3 et 5 chez les bactéries contre entre 4,5 et 15 chez les champignons (Paul et Clark, 1996).**

Que l'on considère les processus cataboliques ou anaboliques, la qualité des substrats servant de source de C et de nutriments aux communautés microbiennes du sol est un déterminant majeur. En effet, la composition chimique des litières végétales et des MOS peut affecter la structure et l'activité des communautés microbiennes et ainsi le taux de décomposition (Aneja *et al.*, 2006). Les litières végétales aériennes et racinaires constituent la majeure source d'énergie et de nutriments pour les communautés microbiennes bien avant les MOS (Wardle *et al.*, 2004). Les communautés microbiennes peuvent, au travers de la décomposition, utiliser une large diversité de substrats organiques qui ne permettent pas toujours de répondre à l'ensemble de leurs besoins élémentaires. **En effet, la décomposition des litières est généralement plus limitée par les éléments minéraux que par la source d'énergie (C) du fait de la nécessité pour les micro-organismes décomposeurs d'investir à la fois dans la synthèse d'enzymes et dans le métabolisme microbien (croissance et maintenance)** (Zechmeister-Boltenstern *et al.*, 2015). La dégradation des substrats complexes (litières ou MOS) nécessite l'intervention successive voire simultanée de différentes classes d'enzymes qui vont dépolymériser les macromolécules pour libérer des substrats solubles essentiels au métabolisme microbien. Différents termes sont utilisés dans la littérature scientifique pour définir ces enzymes microbiennes. **La grande majorité des auteurs parlent ainsi d'enzymes extracellulaires ou d'écoenzymes à savoir des enzymes microbiennes intracellulaires ou extracellulaires libérées dans le sol du fait de processus de sécrétion ou de lyse cellulaire** (Sinsabaugh *et al.*, 2009). La majorité des écoenzymes sont étudiées en relation avec la décomposition des MOS puisqu'elles catalysent la dégradation d'un large gradient de composés organiques carbonés, azotés, phosphatés ou soufrés. Ces enzymes sont caractérisées par différentes constantes régulées au niveau transcriptionnel par différents signaux environnementaux, notamment la présence de substrats spécifiques, des produits terminaux des réactions et la température.

Si les ressources du milieu peuvent modifier la stœchiométrie des communautés microbiennes, en retour ces dernières peuvent aussi altérer la stœchiométrie de leur environnement proche en modulant l'allocation des ressources préférentiellement vers la synthèse de certaines enzymes susceptibles de dégrader des substrats riches en C, N, et autres éléments (Sinsabaugh et Moorhead, 1994). **Ces dernières années, avec l'émergence des concepts d'écologie fonctionnelle déclinés au niveau des communautés microbiennes du sol, la volonté est grande de relier les enzymes microbiennes aux processus écologiques dans des modèles de simulation de la dynamique du C ou des éléments minéraux.** Sachant que la régulation de la synthèse des enzymes dépend à la fois de la présence des substrats spécifiques des enzymes et de la disponibilité en nutriments pour la croissance, les principes de la stœchiométrie peuvent aussi se décliner à cette échelle, les enzymes permettant de répondre à la demande microbienne en nutriment à partir des MOS (Sinsabaugh *et al.*, 2009). Ainsi, la stœchiométrie des communautés microbiennes peut être abordé tant du point de vue des ratios C : éléments minéraux dans la biomasse microbienne que des ratios écoenzymatiques. Si la stœchiométrie de la biomasse microbienne est plus variable que celle des enzymes, cette dernière est néanmoins plus sensible aux variations à court terme des pools de minéraux du sol suggérant une utilisation potentielle de ces ratios comme indicateurs de la disponibilité en nutriments du sol (Fujita *et al.*, 2019). A l'échelle globale, les ratios écoenzymatiques apparaissent comme des indicateurs pertinents des limitations inhérentes à la stœchiométrie des communautés microbiennes (Sinsabaugh *et al.*, 2009). Cependant, à cette échelle, les modèles stœchiométriques peuvent masquer une

variabilité considérable entre les habitats et de ce fait sous-estimer la variation stœchiométrique des communautés microbiennes du sol déjà bien décrites dans le cas d'autres communautés biologiques terrestres ou aquatiques. En comparaison avec la variation observée dans les ratios C:N:P des sols, la stœchiométrie des microorganismes du sol semble être plus largement contrainte (Hartman et Richardson, 2013). **Néanmoins, la stœchiométrie microbienne du sol n'est pas intrinsèquement inflexible et ne correspond pas à une homéostasie stricte.**

#### 4.2.2- Les facteurs de variation de la stœchiométrie et les stratégies microbiennes d'ajustement

Des déséquilibres stœchiométriques temporaires entre les communautés microbiennes et leur environnement peuvent être mis en évidence notamment suite à l'introduction de certaines litières végétales (d'autant plus si les ratios C : minéraux sont élevés) ou entre la surface du sol et la profondeur (transition de l'horizon organique vers l'horizon minéral). Les micro-organismes hétérotrophes présents dans la litière végétale sont limités par N ou P, alors que les communautés microbiennes qui décompose la MOS seraient plutôt limitées par le C. En effet, de manière simpliste, les ratios C:N ou C:P décroissent, de la litière à l'horizon de surface puis au sol profond, correspondant à une disponibilité en C décroissante par rapport à N et P. Ces changements de limitation du métabolisme microbien occasionnent des changements de flux de nutriments, qui peuvent se traduire par une libération du C en excès via les processus respiratoires sous contrainte en minéraux (Tempest et Neijssel 1992) ou de libération d'ammonium *via* les processus d'ammonification nette sous une limitation en C (Schimel et Weintraub, 2003). De plus, au cours de la décomposition des litières et de la stabilisation des MOS, les pertes d'N sont plus élevées que les pertes de P (ratio N:P proche de 40 dans la litière à 6-7 dans la biomasse microbienne) du fait des processus microbiens (stockage de P proportionnellement plus élevé que N), avec une convergence progressive des ratios des résidus en décomposition vers les ratios de la biomasse microbienne et de la MOS (Manzoni *et al.*, 2012).

**L'existence de variabilité spatiotemporelle de la stœchiométrie des ressources de l'environnement impacte en retour la stœchiométrie des communautés microbiennes du sol qui peuvent répondre de différentes manières** (Mooshammer *et al.*, 2014a) :

- **en ajustant le ratio C:N:P:S de leur biomasse (plasticité de la biomasse microbienne) pour répondre temporairement à la composition élémentaire de leurs substrats.** Les deux principaux mécanismes sont la mise en réserve de nutriments en excès, essentiellement C, P et S (lipides, polyphosphates, esters de sulfate ...) et des changements de structure de communautés microbiennes tant au niveau phylogénétique (modification des équilibres entre bactéries et champignons, changement d'abondance de certains taxons) qu'écologique (stratégie d'exploitation des milieux, taux de croissance). Les milieux les plus pauvres en nutriments sont généralement colonisés préférentiellement par les communautés fongiques qui présentent des besoins en nutriments et des activités métaboliques plus faibles que les communautés bactériennes (Güsewell et Gessner, 2009). Au sein des communautés bactériennes, il est communément admis que les familles comme les *Acidobacteria* et les *Actinobacteria* sont plutôt associées à des litières de faible qualité alors que les bactéries Gram négative sont favorisées dans les horizons de sols à forte teneur en MOS (Fierer *et al.*, 2003) et forte disponibilité en N. Avec des taux de croissance et de turn-over plus rapides, les micro-organismes "r-stratégists" présentent une demande en éléments minéraux N et P plus importante (Kaiser *et al.*, 2014) que les "k-stratégists" et sont favorisés d'autant plus que le ratio C/N du substrat est faible. Si certains auteurs s'appuient sur ces stratégies écologiques pour expliquer les changements de structure de communautés microbiennes lors de l'apport de substrats organiques dans les sols (Fierer *et al.*, 2007, Strickland et Rousk 2010), d'autres distinguent les microorganismes en fonction (i) de leurs capacités à utiliser une grande diversité de substrats simples solubles (micro-organismes opportunistes à fort taux de croissance) ou à utiliser des composés plus récalcitrants comme la lignine (micro-organismes exploitatifs à faible taux de croissance) (Moorhead et Sinsabaugh 2006, Hättenschwiler *et al.*, 2011), (ii) de leur capacité à synthétiser des coenzymes distinguant ainsi des



micro-organismes "tricheurs" synthétisant peu ou pas d'enzymes mais utilisant des monomères libérés par la diversité d'enzymes synthétisés par les micro-organismes exploitatifs (Allison, 2005).

- **en modifiant les substrats organiques via une allocation préférentielle d'énergie pour synthétiser des coenzymes qui vont attaquer préférentiellement les polymères qui répondent à leur besoin en C et minéraux.** La synthèse des enzymes requière à la fois du C et de l'N ce qui peut en retour augmenter des limitations en N pour la croissance des micro-organismes (Schimel et Weintraub, 2003) contrairement aux autres éléments tels que P ou S.
- **en augmentant la disponibilité en N et P** du sol du fait de la présence notamment de bactéries fixatrices d'N et de champignons mycorrhiziens.
- **en régulant leur taux de croissance et de fait l'efficacité de l'utilisation du C et des éléments minéraux pendant la décomposition des substrats organiques.**

#### 4.2.3- Notion d'efficacité d'utilisation du carbone et des éléments minéraux dans les écosystèmes

La majorité du C fixé par les producteurs primaires dans les écosystèmes est minéralisé par les chaînes trophiques de décomposeurs dans les sols, conduisant à la production de biomasse microbienne issue de ces processus cataboliques. A l'échelle des écosystèmes, l'efficacité de cette conversion appelée efficacité d'utilisation du C (CUE) contrôle la conversion du C issu des végétaux en biomasse microbienne, le turn-over de cette biomasse et *in fine* l'efficacité de séquestration du C (Sinsabaugh *et al.*, 2017). Chez les micro-organismes du sol, le CUE peut être appréhendé de différentes manières selon les auteurs dans la littérature scientifique. Ainsi Sinsabaugh *et al.* (2013) ont publié une revue afin de stabiliser le cadre conceptuel des recherches ciblées sur cet indicateur et sur sa capacité à refléter le métabolisme des communautés microbiennes. **Selon ces auteurs, le CUE, définit comme le taux de croissance rapporté à l'assimilation du C incluant les pertes par respiration, est une mesure des coûts énergétiques liées à la croissance et la maintenance des organismes dans un environnement particulier.** Il s'agit ainsi de l'efficacité des micro-organismes du sol à intégrer le C disponible de l'environnement, *via* leur métabolisme, dans des composés structuraux ou non structuraux. **Par définition, un fort CUE favorise la croissance microbienne et *in fine* la stabilisation du C dans les sols alors qu'un faible CUE favorise la respiration microbienne (Manzoni *et al.*, 2012).** En d'autres termes, cet indicateur reflète en quelque sorte l'équilibre entre les processus anaboliques et cataboliques au sein des communautés microbiennes. Différentes méthodes notamment basées sur l'utilisation de traceurs isotopiques ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{18}\text{O}$ ...) sont utilisées dans la littérature scientifique pour mesurer cet indicateur. Le CUE considéré à l'échelle globale est compris en moyenne entre  $0,27 \pm 0,11$  (Sinsabaugh *et al.*, 2016) et  $0,5 \pm 0,25$  (Qiao *et al.*, 2019) avec des valeurs de CUE différentes selon les biomes, de  $0,65 \pm 0,22$  en prairies contre  $0,41 \pm 0,22$  en forêts (Qiao *et al.*, 2019). Le CUE ne peut jamais être de 1 car une partie du C prélevé par les micro-organismes est utilisée pour produire de l'énergie pour la croissance, la maintenance et la production d'enzymes (Schimel et Weintraub, 2003, Manzoni *et al.*, 2012). Il est évident qu'à une échelle plus fine, **les valeurs de CUE varient selon les conditions environnementales (notamment la température), la disponibilité en substrats, la stœchiométrie, la composition spécifique et les caractéristiques physiologiques des communautés microbiennes** (Manzoni *et al.*, 2012). Ainsi dans les sols, Manzoni *et al.* (2012) font état d'une valeur médiane de CUE proche de 0,5 avec des valeurs comprises entre 0,25 et 0,75 alors que les modèles utilisent des valeurs comprises entre 0,15 et 0,6. **En fonction des équilibres microbiens, le CUE peut varier avec des valeurs plus fortes chez les micro-organismes "r-stratégists" (fort taux de croissance) en comparaison des "k-stratégists" adaptés à des milieux plus pauvres.** L'apport de substrats organiques dans les sols peut selon le ratio C : élément nutritif moduler le CUE des communautés microbiennes et notamment augmenter le CUE de la composante bactérienne d'autant plus que la disponibilité en éléments minéraux est forte (Keiblinger *et al.*, 2010). Si l'on considère les paramètres climatiques, le CUE diminue dès lors que la température du milieu augmente (Qiao *et al.*, 2019) du fait d'un optimum de température des processus respiratoires supérieur à celui des processus de fixation de C. La disponibilité en éléments minéraux en sols forestiers influence notamment la composante

respiratoire du CUE avec une augmentation linéaire de la respiration spécifique (respiration rapportée à l'unité de C microbien) lorsque la croissance des micro-organismes est limitée par P (augmentation du C:P du sol) (Spohn et Chodak, 2015). Dans les écosystèmes agricoles, les apports de fertilisants azotés sur des prairies temporaires peuvent diminuer la composante respiratoire de la biomasse microbienne et le taux de prélèvement de C sans modifier sa taille et ainsi augmenter le CUE (0,45) d'un facteur de l'ordre de 1,3 à 1,4 en comparaison de situations non fertilisés (0,31) (Spohn *et al.*, 2016). **Ceci suggérerait que du fait de la disponibilité en N minéral, la synthèse d'enzymes serait réduite, limitant de ce fait les prélèvements par les micro-organismes de composés de faible poids moléculaire générés par l'action de ces dernières. Enfin, le CUE apparait fortement contraint lorsque les formes de C sont récalcitrantes et/ou lorsque la disponibilité en nutriments essentiels est réduite.** En effet dans ces deux cas, l'allocation de C pour la synthèse d'enzymes extracellulaires nécessaire aux réactions cataboliques réduit l'anabolisme et donc la croissance microbienne (Blagodatskaya et Kuzyakov, 2008). Les besoins stœchiométriques pour la production de biomasse obligent les communautés microbiennes à adapter leur stratégie d'acquisition à la disponibilité du milieu ce qui en retour contraint le taux de croissance et le niveau de respiration. Dans cette situation lorsque le C devient limitant, les micro-organismes réduisent de fait leur efficacité d'utilisation d'N (NUE) ce qui se traduit par une libération nette d'N dans le milieu (Manzoni et Porporato, 2009). Cette transition vers une minéralisation nette correspond au ratio critique ou TER (Threshold Element ratio) qui définit le seuil pour lequel le métabolisme microbien passe d'un besoin en C ou énergie à un besoin en éléments minéraux requis pour une croissance optimale (Sinsabaugh *et al.*, 2009). **Ce seuil critique détermine ainsi le recyclage de l'élément limitant *via* le métabolisme microbien en orientant les flux vers l'immobilisation nette lorsque le ratio est inférieur au TER ou vers la minéralisation nette dans le cas inverse.**

**Si le CUE a fait l'objet de nombreuses publications ces dernières années, l'efficacité d'utilisation des autres éléments, comme N, P et S, limitant la croissance microbienne est encore moins explorée.** Pourtant ces efficacités d'utilisation des éléments minéraux conditionnent fortement les flux nets de minéralisation et donc *in fine* les services écosystémiques de régulation comme la séquestration du C ou la fourniture d'éléments minéraux pour les plantes. **Les efficacités d'utilisations des éléments minéraux correspondent au ratio entre la quantité d'élément allouée à la croissance et la quantité totale prélevée.** Le NUE décrit la répartition de l'N organique prélevé par les micro-organismes entre les fonctions d'anabolisme (immobilisation de N) et de catabolisme (libération d'N minéral dans le sol par la minéralisation). Il est appréhendé grâce à l'utilisation du traceur isotopique  $^{15}\text{N}$ . Le NUE montre une forte variabilité dans les sols forestiers et notamment dans l'horizon minéral (CV = 30,7%) en comparaison de l'horizon organique (CV = 17,8%) et prend des valeurs moyennes significativement plus importantes dans la litière forestière (0,89) que dans l'horizon minéral (0,70) (Mooshammer *et al.*, 2014b). Le NUE microbien augmente avec l'augmentation du C:N de la ressource et la nécessité pour la biomasse microbienne d'ajuster sa physiologie aux contraintes stœchiométriques de l'environnement et notamment à la limitation en N. Ainsi en réponse aux limitations de l'environnement pour l'énergie et les éléments minéraux, les communautés microbiennes sont capables d'ajustements physiologiques (selon le TER considéré) se traduisant par des modifications du CUE et du NUE, deux indicateurs d'efficacité évoluant de façon inverse mais qui peuvent à la fois moduler la séquestration de C et N ainsi que sur le recyclage d'N dans les sols. Ainsi un fort NUE traduit une forte immobilisation microbienne d'N avec peu de libération de formes inorganiques pour les plantes alors qu'un faible NUE traduit à l'inverse une libération d'N inorganique dans le sol. **Si le NUE pourrait constituer un marqueur de flux N, actuellement peu de papiers n'ont abordé la corrélation entre cet indicateur et le potentiel de minéralisation de N des sols.**

Sinsabaugh et Follstad-Shah (2012) ont proposé un modèle stœchiométrique reliant les données stœchiométriques relatives aux activités écoenzymatiques, à la biomasse microbienne et aux teneurs en éléments minéraux de l'environnement. Ce modèle prédit des valeurs de CUE de l'ordre de 0,5 suggérant possiblement des situations de compétition entre la plante et les micro-organismes pour les éléments minéraux sans coupler les processus d'assimilation du C et de ces éléments limitants explicitement dans le même modèle (Sinsabaugh *et al.*, 2013).

**La stœchiométrie écologique peut constituer un cadre conceptuel pour étudier les effets de différents filtres environnementaux sur les communautés microbiennes impliquées dans la dynamique des MOS et la résultante en termes de SE. S'il est indéniable que les communautés microbiennes jouent un rôle majeur cette dynamique, la résultante nette en termes de minéralisation n'est pas forcément toujours positive du fait de l'importance des processus d'immobilisation. L'approche stœchiométrique peut permettre de mieux prédire la réponse des communautés microbiennes hétérotrophes aux changements de C dans les sols et la résultante en termes de flux nets de minéralisation des éléments minéraux.**

**La modulation du C dans les systèmes agricoles peut se faire :**

**- directement par des apports directs au sol de PRO, de résidus de cultures ou de couverts végétaux. Dans le cas des apports directs de C au sol, les teneurs, les caractéristiques stœchiométriques, la nature du C ainsi que les fréquences d'apports sont des éléments à prendre en compte pour évaluer les effets sur les communautés microbiennes. Si la stœchiométrie des digestats de méthanisation est proche de celle d'un lisier, leurs fortes teneurs en azote minéral et en C récalcitrant pourraient être à l'origine de réponses stœchiométriques des communautés microbiennes et d'efficacité d'utilisation des minéraux par les cultures différentes de celles observées en réponse à des apports de C sous formes d'effluents d'élevage plus traditionnels. Cette hypothèse sera développée dans la partie 4.3.**

**- indirectement en augmentant la diversité taxonomique et fonctionnelle des peuplements cultivés au travers de l'intégration d'associations végétales dans les systèmes de culture. Ces associations en fonction des caractéristiques fonctionnelles des espèces choisies vont modifier les communautés microbiennes directement *via* la sélection de certains taxons ou indirectement *via* des changements de stœchiométrie des litières racinaires et aériennes. En retour ces communautés microbiennes pourraient avoir un rôle dans les interactions plante-plante au niveau souterrain et intervenir dans les processus écologiques impliqués. Cette hypothèse sera développée dans la partie 4.4.**

### **4.3- Les effets des digestats de méthanisation sur l'efficacité d'utilisation de N par les plantes cultivées et sur le fonctionnement microbien des sols et la résultante à court et moyen terme sur le bouclage des cycles C et N.**

#### *4.3.1- La méthanisation un levier pour assurer la transition agroécologique et énergétique des systèmes agricoles ?*

La méthanisation est basée sur un processus biologique (digestion anaérobie) qui en l'absence d'oxygène permet la transformation de la matière organique (i.e. biomasse) en biogaz (méthane et CO<sub>2</sub>). La biomasse qui joue le rôle de substrat de la réaction peut provenir de diverses activités notamment agricole (effluents d'élevage, résidus de cultures, cultures intermédiaires à valorisation énergétique...), industrielles (graisses, drêches...) ou ménagères (déchets verts). Dans d'autres contextes, la méthanisation peut aussi être envisagée comme un moyen de valorisation de biomasse végétale délétère pour l'environnement. C'est le cas notamment du projet SAVE soutenu par l'ANR sur la période 2020-2022 dans lequel je suis impliquée et qui vise à étudier la faisabilité de mise en place en Guadeloupe d'une filière de valorisation des sargasses par méthanisation.

**A l'échelle régionale, notre territoire connaît depuis quelques années un fort dynamisme de la filière méthanisation.** En effet, fin 2019, La région Grand-Est comptait 122 unités de méthanisation agricole en fonctionnement (*Figure 50*). Ce développement important a été favorisé par une réelle volonté des

acteurs locaux de lancer cette transition énergétique. **Actuellement, la région Grand Est, apparaît comme la première région française en termes d'unités de méthanisation et de puissance électrique raccordée avec un très fort potentiel de développement de la filière biométhane dans les années à venir.**

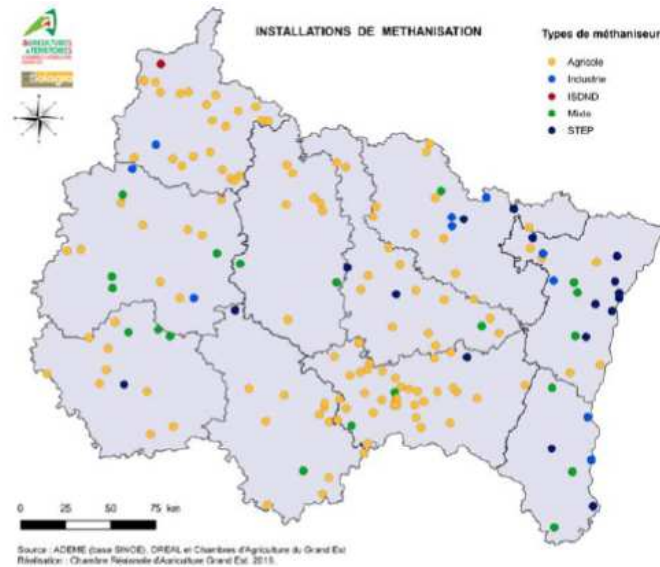


Figure 50 : Carte des unités de méthanisation en fonctionnement dans le Grand-Est

La région Grand-Est comporte une majorité d'agriculteurs en polyculture-élevage, ce qui explique que la biomasse utilisée en méthanisation est essentiellement basée sur les effluents d'élevage (36% fumier et 29% lisier). La méthanisation permettrait actuellement une diversification économique permettant le maintien des élevages dans le Grand-Est. **La méthanisation agricole apparaît comme un levier pour la transition agroécologique et énergétique des systèmes de production agricole, mais comme toute innovation, elle doit être maîtrisée et déployée en prenant en compte les spécificités agricoles et territoriales pour adapter le meilleur modèle de développement.** Sur la ferme expérimentale de l'ENSAIA, la réflexion par rapport à l'autonomie énergétique a débuté en 2008 et une unité de méthanisation est en activité depuis 2013. La construction et la mise en œuvre de la plateforme de méthanisation du domaine de La Bouzule a ainsi permis à l'ENSAIA de se positionner comme l'un des principaux acteurs du développement de la filière méthanisation en Lorraine et comme un interlocuteur des problématiques liées aux énergies renouvelables au sein d'un territoire et à la réflexion actuelle sur la transition agroécologique et énergétique. **La dynamique de cette plateforme de méthanisation m'a permis de développer depuis 2017 une activité de recherche autour de la valorisation agronomique des co-produits de réaction de méthanisation communément appelés digestats.** En effet, si de nombreux verrous ont été levés ces dernières années sur la faisabilité technique autour de la mise en place d'unités de méthanisation, de nombreuses questions sont actuellement adressées à la profession agricole concernant la valorisation agronomique des digestats et ce quel que soit le territoire considéré. Les digestats peuvent en effet être utilisés en agriculture comme engrais et/ou amendements organiques (Möller et Müller, 2012) et constituer des bio-intrants, susceptibles de renforcer le fonctionnement biologique des sols et de contribuer à la nutrition des plantes.

#### 4.3.2- Les digestats de méthanisation peuvent-ils contribuer à améliorer le bouclage des cycles C et N ?

Les digestats, du fait de leur forte teneur en azote minéral (notamment sous forme ammoniacale) peuvent dans certaines conditions et pour certaines cultures maraichères remplacer les engrais de

synthèse (Albuquerque *et al.*, 2012a). Dans le cas des espèces prairiales et notamment du ray-grass anglais, si les digestats peuvent significativement augmenter le rendement en comparaison d'un témoin non fertilisé, leur valeur fertilisante reste néanmoins souvent inférieure aux engrais azotés de synthèse (Walsh *et al.*, 2012a). Dans un contexte économique marqué par une forte volatilité sur le prix des engrais azotés et un contexte environnemental caractérisé par de nombreux impacts de la fertilisation (pollution des ressources en eau et de l'atmosphère, altération de la qualité des sols, perte de biodiversité, ...), **l'utilisation des digestats en substitution partielle des fertilisants minéraux de synthèse apparaît comme une alternative doublement intéressante**. Cette substitution apparaît d'autant plus évidente sur les exploitations agricoles qui disposent d'un séparateur de phase en sortie de digesteur. La fraction liquide issue de la séparation de phase possède en effet une teneur en azote minérale permettant une utilisation comme fertilisant au printemps alors que la fraction solide garde des propriétés d'amendement proches de celles des composts de végétaux. La fraction liquide peut ensuite subir d'autres types de traitements de type micro ou nanofiltration (technologie Nereus) permettant de purifier et concentrer les éléments minéraux pour répondre au cahier des charges des matières fertilisantes.

Cependant, considérant que la biomasse incorporée dans les méthaniseurs est en grande partie à base d'effluents d'élevage, la diminution totale des restitutions organiques de type fumier, lisiers bruts sur les parcelles pourrait conduire à moyen terme à des diminutions de la teneur en MOS et à des modifications de la qualité biochimique de cette dernière. Si les digestats de méthanisation sont considérés au même titre que les effluents d'élevage comme des amendements qui pourraient améliorer et / ou maintenir les propriétés physiques, chimiques et biologiques des sols, leur impact sur les propriétés du sol est encore un domaine de recherche peu exploré. Les effets des digestats sur les propriétés du sol dépendent de leurs caractéristiques, qui varient fortement selon le type de matière première utilisée (Muscolo *et al.*, 2017). De ce fait, les relations entre le type de matière première et les effets des digestats sur les propriétés du sol ne sont pas élucidées (Nkoa 2014). Une typologie du digestat basée sur les données de caractérisation de la valeur fertilisante couramment trouvées dans la littérature a été récemment publiée (Guilayn *et al.*, 2019). Néanmoins, seules les caractéristiques chimiques ont été prises en compte, sans tenir compte des données expérimentales sur les effets des digestats sur le fonctionnement du sol. Si certaines études indiquent une activité microbienne accrue du sol après l'application sur le terrain de digestats (Albuquerque *et al.*, 2012b, Walsh *et al.*, 2012b), **il n'y a actuellement que peu de consensus sur les indicateurs microbiens du sol sensibles aux apports de digestats et sur le sens et la gamme de variation de ces indicateurs en réponse à ce type de fertilisation organique**. Pour tenter d'améliorer notre connaissance des effets des digestats sur le fonctionnement microbien des sols en lien avec la décomposition des MOS et la fourniture d'éléments minéraux pour les plantes, je suis impliquée dans le suivi de différents essais agronomiques menés dans le cadre du projet Persephone (**P**roduction d'**E**nergies **R**enouvelables, **E**ngrais et **P**roduits **H**armonieux d'**O**rigines **N**atur**E**lles) financé dans le cadre du programme Interreg VA 2013 -2020 (période 2017-2020). Ce projet a pour objectif principal de positionner la filière biogaz dans la nouvelle bioéconomie et l'économie circulaire. L'action 5 du projet consiste en un suivi sur prairies des effets de différents types de fertilisation dont les digestats sur différents critères agronomiques (rendement et qualité fourragère, fonctionnement microbien du sol) et environnementaux (lixiviation de nitrate). Différents essais agronomiques ont été mis en place sur chaque versant de la Grande Région, dont deux sur la ferme expérimentale de la Bouzule (*Figure 51*).



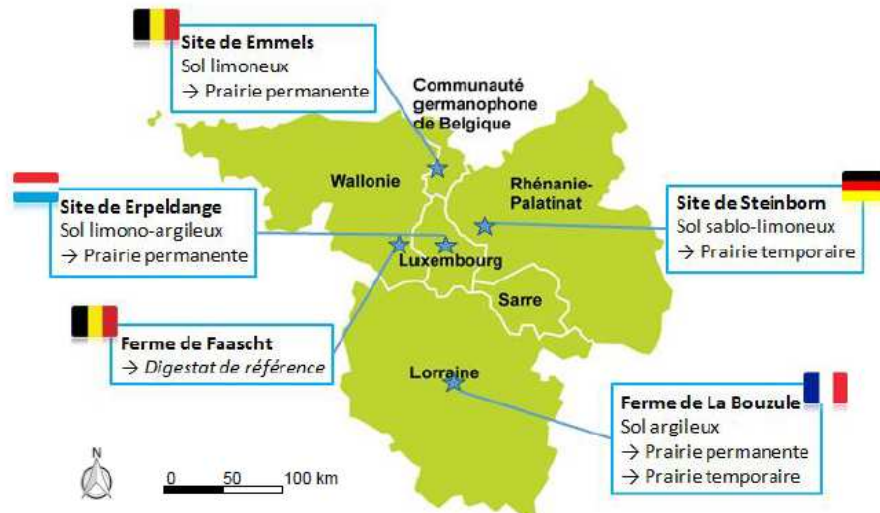


Figure 51 : Localisation et caractéristiques des sites expérimentaux participant à l'étude

Sur chaque site expérimental, chaque micro-parcelle a une surface de 7 m<sup>2</sup> et chaque modalité est répétée quatre fois selon un dispositif en bloc avec randomisation au sein de chaque bloc. Toutes les prairies sont exploitées en régime de fauche uniquement. Les modalités de fertilisation testées sur l'ensemble des sites sont les suivantes : zéro fertilisation (témoin), digestat brut de référence (230 unités N par hectare), digestat brut local (230 U de N/ha), lisier brut (230 U de N/ha) et nitrate d'ammonium (230 U de N/ha).

Source du fond de carte : Luxembourg.public, 2017.

Sur chaque essai, des prélèvements de sols sont effectués deux fois par an sur la profondeur 0-20 cm, en février ou mars (au moment de la mesure des reliquats d'azote sortie hiver et avant les premiers apports de fertilisants), et en octobre, avant la dernière fauche de l'année. Sur la période 2017-2020, différents indicateurs relatifs à la taille du compartiment microbien (biomasse microbienne carbonée et azotée), son activité (enzymes marqueurs impliquées dans la minéralisation des MOS en lien avec les cycles C, N, S et P) ainsi que les pools extractibles de C et N total (facilement utilisables par les microorganismes du sol pour assurer leur croissance) et les pools minéraux (essentiels à la croissance des plantes et des micro-organismes) ont été suivis. Les suivis réalisés dans le cadre du projet Persephone ont permis de mettre en évidence que les digestats de méthanisation n'ont pas d'effets significatifs sur le fonctionnement microbien des sols étudiés au bout de deux années d'épandage.

**Néanmoins, ces suivis de terrain ne permettent d'élucider ni les lois de réponse des communautés microbiennes ni les processus et fonctions susceptibles d'être modulés par ces digestats de méthanisation et la résultante en termes de fourniture d'éléments minéraux et de bouclage des cycles à court et moyen terme. De plus, si les pertes d'N par lixiviation et volatilisation sont plus faibles dans les modalités avec digestats bruts en comparaison des fertilisants minéraux, les rendements fourragers restent cependant inférieurs dans les modalités avec digestats suggérant une moindre efficacité de l'utilisation de l'N du digestat brut par la plante.**

Aussi pour apporter des éléments de compréhension à ces interrogations, les objectifs, hypothèses et méthodologies envisagées se déclinent de la façon suivante :

- **Le 1<sup>er</sup> objectif sera de mesurer en conditions contrôlées à l'échelle du cycle de développement l'efficacité d'utilisation de l'N du digestat par les plantes cultivées et plus largement de suivre la distribution de l'N dans le système sol plante en intégrant le compartiment microbien.**

En général, les formes d'N disponibles pour les plantes dans les sols sont le nitrate (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) et l'ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). Leurs proportions dans les sols dépendent des conditions environnementales, des communautés microbiennes des sols ainsi que du mode d'utilisation des sols et des pratiques agricoles. Bien que les plantes soient capables d'utiliser les deux formes d'N, la forme préférentiellement absorbée varie selon les espèces végétales et même au sein d'une même espèce. Lorsque le NH<sub>4</sub><sup>+</sup> est



présent à des concentrations élevées, cet élément provoque chez les plantes un certain nombre de perturbations physiologiques et morphologiques (i.e. syndrome ammoniacal). La plupart des plantes, y compris le blé, accumulent moins de biomasse lorsqu'elles sont cultivées avec du  $\text{NH}_4^+$  comme source de N que lorsqu'elles sont cultivées avec du  $\text{NO}_3^-$  (Liu *et al.*, 2017). Récemment, Vega-Mas *et al.* (2019) ont mis en évidence que lorsque les racines de blé sont incubées avec du  $^{15}\text{NO}_3^-$ , la synthèse d'acides aminés est significativement inférieure en comparaison de racines incubées avec du  $^{15}\text{NH}_4^+$ . Ces résultats soulignent d'une part que le coût énergétique de l'assimilation du nitrate ralentit l'utilisation de cette forme comme source d'N et d'autre part que l'adaptation de la racine à la nutrition à base d'ammonium pourrait être un avantage favorisant une assimilation plus efficace de N. **La fraction liquide des digestats, du fait de d'une forte teneur en N minéral et notamment en ammonium pourrait être utilisée de manière plus efficace que les autres fertilisants organiques ou minéraux.** Des expérimentations seront envisagées en conditions contrôlées en chambres phytotroniques avec des approches de traçage isotopique au  $^{15}\text{N}$ , afin de mieux comprendre le devenir de l'N initialement présent dans la fraction liquide de digestat dans le système sol-plante. Les deux espèces choisies seront le blé d'hiver, espèce annuelle et le ray-grass italien, espèce pluriannuelle utilisée en prairie temporaire. Ces espèces sont bien représentées dans les systèmes de culture et sont donc susceptibles de recevoir des apports de digestats. Les plantes seront cultivées dans des tubes de cultures contenant un mélange de sol et de sable et aux stades de développement correspondant aux apports d'N dans la pratique, elles seront fertilisées soit avec une fraction liquide de digestat ou de l'ammonitrate enrichis en  $^{15}\text{N}$ . Une partie des plantes seront sacrifiées 72h après l'apport de façon à mesurer pour chaque stade de développement l'efficacité d'interception et d'utilisation de l'N par les plantes dans les deux modalités fertilisantes. Sachant que les caractéristiques fonctionnelles des plantes cultivées notamment au niveau racinaire sont des déterminants de l'efficacité d'utilisation de N (Garnett *et al.*, 2009), il s'agira, au-delà de la mesure de  $^{15}\text{N}$  dans les parties racinaires, de caractériser en conditions contrôlées l'architecture racinaire *via* des outils de type WinRhizo (Slezack-Deschaumes *et al.*, 2018) et notamment de focaliser sur les racines fines qui ont un rôle prépondérant dans l'absorption minérale. En effet, les caractéristiques racinaires pourraient être influencées par la forte disponibilité en ammonium des digestats mais aussi par des composés bioactifs comme des alcaloïdes, des vitamines et des hormones (Lu *et al.*, 2019). La forte disponibilité en ammonium dans la fraction liquide des digestats pourrait aussi stimuler l'activité des communautés nitrifiantes des sols et de ce fait limiter l'interception d'ammonium par la plante. En plus de l'efficacité d'interception de l'N par les racines, l'abondance et l'activité des communautés nitrifiantes seront mesurées sur les sols échantillonnés. Un bilan de répartition de  $^{15}\text{N}$  dans les différents compartiments du système sol-plante (MOS, biomasse microbienne, parties racinaires, parties aériennes) sera effectué sur des plantes marquées en début de cycle de développement.

Ces expérimentations faisant appel à des techniques de marquage pourront se faire en collaboration avec des collègues de l'UR BEF (Bernd Zeller) et de l'UMR SILVA (Caroline Plain) de l'INRAE de Champenoux avec qui j'ai déjà travaillé dans le cadre de projets passés ou en cours actuellement.

- **Le 2<sup>nd</sup> objectif sera de mesurer en absence de plante dans des mésocosmes de sol, les effets de la fraction liquide de digestats sur les processus microbiens en lien avec la décomposition des MOS.**

Dans les écosystèmes agricoles, les apports de fertilisants azotés sur des prairies temporaires peuvent augmenter le CUE en comparaison de situations non fertilisées (Spohn *et al.*, 2016), CUE qui d'un autre côté peut être contraint lorsque les formes de C sont récalcitrantes et/ou lorsque la disponibilité en éléments minéraux est réduite. Aussi les apports de digestats pourraient à court ou moyen terme modifier les communautés microbiennes. **Les digestats, du fait d'une teneur en C soluble plus faible et une teneur en N minéral plus élevée que les effluents bruts (lisier, fumier), pourraient sélectionner à court terme des communautés microbiennes "k-stratégists" à faible CUE et fort NUE se traduisant par une forte immobilisation microbienne des nutriments et peu de libération de formes inorganiques pour les plantes.** Des sols avec des teneurs en MOS contrastées, seront amendés avec des digestats présentant des caractéristiques contrastées (type de fractions, composition

biochimique...). A chaque date d'échantillonnage (0, 7, 14, 28, 56, 112, 180 jours) et pour chaque modalité de digestat, les caractéristiques microbiennes sélectionnées (activités enzymatiques liées à la minéralisation du C, N, P et S; biomasse microbienne; rapport bactéries/champignons, métabarcoding 16S et ITS) (Thiele-Bruhn *et al.*, 2019) ainsi que la résultante en termes de flux de minéralisation des nutriments (N et S) seront mesurés pour évaluer l'effet des digestats sélectionnés sur les composantes chimiques et biologique de la fertilité des sols. L'utilisation de fractions liquides marquées au  $^{15}\text{N}$  préparées pour l'objectif 1 permettra de mieux caractériser les flux bruts de minéralisation et immobilisation de N et d'utiliser des approches de stœchiométrie (NUE, ratio écoenzymatique) afin de mieux comprendre la réponse des communautés microbiennes à l'apport de digestats. L'analyse du CUE et du turnover microbien sur les sols exposés aux différentes modalités de fertilisation est essentielle pour estimer le potentiel de séquestration et de décomposition/minéralisation du C des sols (Geyer *et al.*, 2016). Partant du principe que les deux types de communautés (r et k) sont capables de consommer du glucose mais présentent des paramètres de croissance et des CUE différents, l'ajout de glucose  $^{13}\text{C}$  sur les différents sols et le suivi en cinétique de la minéralisation du glucose pourra permettre de calculer différents paramètres de croissance des communautés microbiennes sélectionnées par les différentes fractions de digestats (durée de latence,  $\mu$ ,  $K_s$ , CUE...) (Blagodatskaya *et al.*, 2014).

- **Le 3<sup>ème</sup> objectif sera de mesurer les effets à moyen et long terme de l'application de digestats sur la composition floristique, les teneurs et qualités des MOS et les indicateurs de fonctionnement microbien du sol, en lien avec la décomposition des MOS sur les sites expérimentaux instrumentés dans le cadre du projet Persephone.**

Les pratiques de fertilisation minérale peuvent orienter la composition des communautés végétales vers des espèces à fort pouvoir compétitif et à forte capacité productive. Ces espèces dites "compétitives" optimisent l'occupation de l'espace et la photosynthèse en produisant des tissus peu denses mais avec un fort taux de croissance. Ces espèces sont capables de recycler rapidement leurs nutriments en accélérant ainsi la décomposition des litières (Wedin and Tilman 1996). **Les digestats, du fait d'une plus forte disponibilité en N minéral que les effluents bruts pourraient favoriser les espèces dites compétitives au détriment des autres espèces notamment des légumineuses.** La dynamique de la composition végétale sera suivie par des inventaires floristiques permettant de caractériser le recouvrement spécifique des végétaux en présence. Les traits fonctionnels ciblés seront des traits aériens, choisis selon leur valeur indicatrice des fonctions de la plante et selon leur simplicité de mesure. Il s'agira notamment de TMSF (teneur en matière sèche foliaire) et du SLA (surface foliaire spécifique), deux traits fonctionnels fortement influencés par les propriétés anatomiques et structurelles des feuilles (Garnier et Navas, 2012) qui peuvent différer significativement en fonction des stratégies écologiques des plantes. **De plus, les digestats, du fait de la forte représentativité de formes de C récalcitrant, pourraient modifier à moyen et long terme les processus d'anabolisme microbien et augmenter la teneur en C préférentiellement dans les fractions les plus fines des MOS.** Ceci favoriserait le stockage de C au détriment de la décomposition/minéralisation et *in fine* de la fourniture d'éléments minéraux aux plantes cultivées, ce qui indirectement pourrait modifier la composition floristique des prairies. Au-delà d'un simple suivi au cours de temps des évolutions de teneurs en MOS suite aux apports de digestats, il s'agira d'évaluer les effets des digestats sur la nature et la stabilité des MOS et d'évaluer les changements de ratios stœchiométrique C :N :P :S des MOS avec l'hypothèse que ces derniers dépendent de leur nature et de leur stabilité (Tipping *et al.*, 2016). Une campagne de prélèvement de sols sera effectuée 5 ans et 10 ans après la mise en place des modalités de fertilisation pour faire des mesures de stocks de C et de caractérisation des MOS sur différentes profondeurs de sol (0-30 cm, 30-60 cm et 60-90 cm). Il s'agira notamment de mettre en lien sur le jeu de données acquis les relations entre les caractéristiques chimiques et biochimiques des digestats, les stocks de C mesurés, les qualités de MOS et les caractéristiques microbiennes et physicochimiques des sols. En fonction de la disponibilité des modèles de simulation, les données obtenues pourront être comparées aux données simulées.

Du point de vue scientifique, la prise en compte des effets des digestats sur les communautés microbiennes dans différentes conditions pédoclimatiques n'a que peu été abordé dans la littérature et constitue de ce fait une originalité pour répondre à un ensemble de questions sous-jacentes à la dissémination de cette pratique innovante dans le contexte très réglementée de la directive nitrates à l'échelle européenne. Ces travaux permettront de mieux comprendre le devenir de l'N présent dans les digestats dans le système sol-plante à l'échelle du cycle cultural et de produire des connaissances sur les effets des digestats sur le fonctionnement microbien des sols en lien avec la fourniture d'éléments minéraux pour les plantes à court et moyen terme (à 10 ans). Ce projet n'a pas vocation à constituer une approche écotoxicologique dans le sens où il ne s'agit pas de mettre en lumière des effets potentiellement délétères des digestats dans les jours suivant son application mais bien de suivre les effets des applications sur le système sol-plante à l'échelle annuelle. Le projet partira des observations de terrain sur le réseau de parcelles du projet Persephone ou d'autres pour aller vers une compréhension plus fine des mécanismes en conditions contrôlées afin d'apporter des éléments de réponse à la profession agricole. En effet, de nombreux exploitants agricoles en région Grand Est et notamment dans le cadre de l'AAFM (Association des Agriculteurs Méthaniseurs de France) ont besoin d'éléments tangibles pour discuter sereinement de la méthanisation et de l'utilisation des digestats sur leurs territoires agricoles. Actuellement, des débats passionnés animent les campagnes opposant de façon très manichéenne les convaincus, les sceptiques et les détracteurs et il devient urgent que la recherche et le développement participe à ces échanges en apportant sa vision éclairée, basée sur des données expérimentales et/ou de modélisation. Ce travail de recherche bénéficiera d'un financement de contrat doctoral à partir de septembre 2021 co-financé pour partie dans le cadre de la Chaire Agrométhana piloté par l'ENSAIA. Cette chaire de mécénat entre l'Université de Lorraine et divers partenaires du monde socio-professionnel comportera différents volets dont l'un sur la valorisation agronomique des digestats et les effets à court, moyen et long terme sur le fonctionnement des sols agricoles et le recyclage de N dans le système sol-plante. Aussi, les différents partenaires impliqués dans la chaire seront intégrés aux réflexions ce qui permettra d'assurer une dissémination des résultats auprès des différents acteurs de la filière méthanisation tant à l'amont qu'à l'aval.

#### **4.4- Les associations végétales pour renforcer la fourniture de nutriments (N et S) et leur efficacité d'utilisation par les plantes cultivées dans un contexte de réduction de la dépendance des systèmes de cultures aux engrais de synthèse**

##### *4.4.1- Quelques éléments de contexte*

L'efficacité d'utilisation de l'azote des engrais de synthèse à l'échelle globale est estimée entre 33 et 36% pour la production de céréales (Ladha *et al.*, 2005). Si les apports d'engrais minéraux permettent une augmentation significative des rendements des cultures à court terme, l'utilisation de traceurs isotopiques ( $^{15}\text{N}$ ) met en évidence que 10 à 50% des fertilisants minéraux appliqués peuvent être immobilisés dans la biomasse microbienne l'année de l'application, réduisant l'efficacité d'utilisation par les plantes. De plus, si cette fertilisation N minérale peut affecter directement et/ou indirectement la dynamique des MOS en modifiant notamment les entrées de C, les stocks de MOS et les émissions de  $\text{CO}_2$  (Mulvaney *et al.*, 2009), la teneur en N organique des sols fertilisés uniquement avec des engrais minéraux diminue significativement au cours du temps suggérant que ce type d'apports n'influence donc pas à long terme la fertilité azotée. Ce résultat est en cohérence avec les résultats de Bünemann *et al.*, 2006 qui montrent que les apports d'engrais minéraux n'influencent aussi que peu le cycle de S des sols, et ainsi la fertilité soufrée des agrosystèmes.

Pour aboutir à une substitution partielle voire totale des engrais de synthèse, l'intensification écologique doit reposer notamment sur un renforcement des caractéristiques suivantes (Fonte *et al.*, 2012) :

(i) la capacité intrinsèque du sol à fournir des éléments minéraux *via* une optimisation du recyclage interne des éléments entre les pools organiques et inorganiques (Drinkwater et Snapp, 2007). Ce

recyclage est notamment conditionné par les caractéristiques fonctionnelles des communautés microbiennes. Ces caractéristiques peuvent être appréhendées au travers du niveau de synthèse de différentes classes d'enzymes microbiennes qui participent à la décomposition des matières organiques des sols (Schimel et Weintraub 2003, Moorhead et Sinsabaugh 2006) ainsi que des efficacités microbiennes d'utilisation du C et des éléments minéraux (Manzoni *et al.*, 2012 ; Mooshammer *et al.*, 2014a et b).

(ii) l'efficacité d'utilisation des éléments minéraux par les plantes. Les caractéristiques fonctionnelles des plantes cultivées notamment au niveau racinaire apparaissent comme des déterminants de l'efficacité d'utilisation d'éléments minéraux comme l'N (Garnett *et al.*, 2009). Pour un peuplement mono-spécifique, l'efficacité de l'utilisation des nutriments est un caractère complexe qui dans le cas de l'N se décline en 2 composantes (Hirel *et al.*, 2007), (i) l'efficacité d'interception et de prélèvement des éléments nutritifs, (ii) l'efficacité d'assimilation / remobilisation des éléments nutritifs. En systèmes à bas intrants, les résultats de Foulkes *et al.* (2009) suggèrent qu'il faut améliorer la capacité d'interception et de prélèvement des éléments par les plantes cultivées en prenant en compte leurs traits fonctionnels notamment racinaires qui conditionnent cette capacité.

**Cette partie du projet se propose d'étudier l'effet des associations végétales pour substituer, en partie, les engrais de synthèse par un fonctionnement microbien du sol permettant une meilleure fourniture de d'éléments minéraux et une meilleure efficacité d'utilisation par les plantes cultivées. Ce projet a fait l'objet d'une demande de co-financement de thèse auprès du département AgroEcoSystem d'INRAE pour 2021.**

#### *4.4.2- La diversité végétale, un effecteur des interactions avec les communautés microbiennes et du recyclage des nutriments ?*

Depuis les années 1970, la spécialisation des régions d'élevage et de cultures a conduit à une simplification et à un raccourcissement des successions culturales, liés notamment à la réduction du nombre d'espèces cultivées et à la diminution des surfaces en prairies temporaires et/ou artificielles (Schott *et al.*, 2010). Cette simplification des systèmes de culture s'est accompagnée de pratiques agricoles renforçant la dépendance aux engrais minéraux (en substitution du recyclage des effluents d'élevage) et intensifiant le travail des sols. Si l'on compare les écosystèmes agricoles à d'autres écosystèmes naturels, la diversité planifiée est plus faible souvent réduite à une seule espèce dans les peuplements annuels de grande culture. Dès lors, le concept d'intensification écologique (Cassman, 1999 ; Griffon, 2007) qui est notamment sous-tendu par le rôle de la biodiversité dans les écosystèmes, pour assurer la mise à disposition de services et bénéfices écosystémiques, semble pour le moins difficile à envisager. Si les communautés microbiennes sont des acteurs majeurs des processus de décomposition des MOS, leurs caractéristiques d'abondance de diversité et de fonction sont fortement modulées par différents filtres environnementaux biotiques ou abiotiques. Parmi ces filtres, le couvert végétal est une variable d'entrée importante à considérer du fait de l'existence d'un recyclage permanent de matière (organique et minérale) entre le sol et la plante.

En fonction des stratégies écologiques (compétitive vs conservative), les caractéristiques fonctionnelles des espèces végétales ainsi que la qualité des tissus végétaux déposés dans le sol (litières aériennes et racinaires) peuvent ainsi modifier les communautés microbiennes et le recyclage des nutriments :

- i. Indirectement en modulant la stœchiométrie des MOS. Dans les écosystèmes forestiers, si les essences d'arbres sont le principal facteur expliquant les ratios C :N dans les horizons organiques (Cools *et al.*, 2014), dans les horizons plus profonds, la composition des MOS est davantage déterminée par le turnover microbien que par le type d'essences forestières (Lorenz et Thiele-Bruhn, 2019). De façon générale, les espèces végétales qui ont de fort taux de croissance (espèces compétitives), du fait d'une flexibilité stœchiométrique plus grande (Yu *et al.*, 2011), présentent de fortes concentrations en N et P dans leurs feuilles (faibles ratios C :N, C :P et N :P). A l'inverse les

espèces à stratégie conservative vont présenter une plus forte efficacité de recyclage des éléments minéraux (notamment N et P) dans les sols pauvres se traduisant par des ratios C:N et C:P supérieurs dans les litières et de ce fait des limitations potentielles en N et P pour les communautés microbiennes au cours de la décomposition. La méta-analyse de Zhang *et al.* (2008) met en évidence que la qualité de la litière explique 73% de la variabilité du taux de décomposition en considérant un large gradient d'espèces végétales et de types de tissus. Aussi la question de l'identification des caractéristiques fonctionnelles susceptibles de contrôler les processus de décomposition est importante pour mieux paramétrer la résultante en termes de stockage de C et de recyclage des éléments minéraux. Les études de caractérisation sont plus nombreuses sur les litières aériennes que racinaires. Pourtant la production et le turnover des racines fines constituent une entrée de matières organiques importante dans les sols. La décomposition des racines fines est une source d'énergie importante pour les micro-organismes du sol (Yuan et Chen, 2010) et le temps de résidence du C racinaire dans les sols est supérieure à celui du C des parties aériennes (Rasse *et al.*, 2005), suggérant une plus forte contribution à la stabilisation du C dans les sols.

- ii. Directement, en favorisant notamment des taxons microbiens (changement des équilibres bactéries/champignons) présentant une stœchiométrie proche des substrats organiques présents dans le sol (Fanin *et al.*, 2013 ; Bell *et al.*, 2014).

En retour, les interactions entre les plantes et les communautés microbiennes peuvent influencer la diversité et la dynamique des communautés végétales. Les plantes peuvent influencer la performance d'individus de la même espèce et d'autres espèces en modifiant les communautés microbiennes, un effet de feedback proposé par Bever *et al.* (1997) dans leur cadre conceptuel d'étude des interactions plantes – microorganismes. Cette notion de feedback implique deux étapes : (i) la présence d'une plante va modifier la composition des communautés microbiennes du sol et (ii) en retour, ces modifications affecteront positivement (cas de micro-organismes mutualistes) ou négativement (cas de micro-organismes pathogènes) la croissance de cette même plante. Les interactions microbiennes stabilisent ainsi la coexistence des espèces végétales quand les micro-organismes suppriment plus fortement la croissance de l'espèce à laquelle ils sont inféodés (feedback négatif) plutôt que celle des autres plantes (effets directs supérieurs aux effets indirects). Les communautés microbiennes du sol peuvent influencer la coexistence des espèces *via* leur feedback sur la croissance des plantes mais également *via* des mécanismes de facilitation. **Ces effets des communautés microbiennes sur la coexistence des espèces sont généralement étudiés sur des peuplements naturels et en considérant uniquement les micro-organismes pathogènes et symbiotiques. Dans le cadre des associations d'espèces, il semble intéressant d'étendre le cadre conceptuel de l'étude des effets directs et indirects dans les interactions plante-plante à l'ensemble des communautés microbiennes dont celles impliquées dans la décomposition/minéralisation des MOS.**

#### *4.4.3- L'agroforesterie, un modèle pour étudier le rôle des communautés microbiennes dans le recyclage des nutriments et les interactions plante-plante ?*

**L'agroforesterie est un mode d'exploitation des terres agricoles associant des plantations d'arbres et des cultures ou des pâturages** (Dupraz et Capillon, 2005). Autrefois courantes en Europe, les cultures agroforestières occupent désormais une faible superficie et ont été considérablement abandonnées au cours du 20<sup>ème</sup> siècle en raison de la spécialisation des systèmes et de la mécanisation. Actuellement les surfaces dédiées à l'agroforesterie sur le territoire français restent difficiles à répertorier notamment du fait de leur diversité et de leur faible surface. Les systèmes agroforestiers recoupent des formes anciennes et traditionnelles de polyculture-élevage, constitutives du bocage, et plus récemment des plantations d'arbres en alignement à l'intérieur des parcelles (agroforesterie intraparcellaire) encouragées par la PAC. Le recensement 2008 faisait état de 168 000 ha de surfaces d'agroforesterie traditionnelle en France (Revue Agroforesterie, 2008) soit moins de 1% de la surface agricole utile (SAU) et actuellement, les experts mentionnent l'existence d'environ 6000 ha d'agroforesterie intraparcellaire (communication personnelle RMT agroforesterie). **Le modèle agroforestier qui permet la coexistence des essences forestières et des espèces cultivées sur une**



même surface constitue dans le contexte agricole européen une voie de diversification écologique des exploitations agricoles (Smith *et al.*, 2012). Ainsi une introduction maîtrisée de l'arbre en association avec des plantes cultivées dans les systèmes de culture conduit à de nombreux bénéfices notamment du point de vue des fonctions écologiques et des services environnementaux (conservation de la biodiversité, amélioration de la qualité de l'eau, séquestration du C, recyclage de l'eau et des nutriments...) (Cardinael *et al.*, 2018 ; Udawatta *et al.*, 2019 ; Zhu *et al.*, 2020).

En France, le modèle agroforestier intrigue les agriculteurs et de nombreuses initiatives individuelles se développent depuis plusieurs années. En région Grand Est, une trentaine de plantations agroforestières intra-parcellaires ont été recensées et la typologie réalisée dans le cadre du projet PotA-GE (financement ADEME, 2018-2021) met en évidence des systèmes très différents en termes de systèmes de culture, de densité d'arbres, de diversité des essences forestières reflétant souvent des motivations variées (valorisation paysagère, bien-être animal, diversification des revenus de l'exploitation, retour de biodiversité et de fonctionnement écologique...). En termes de recherche, les systèmes agroforestiers sont étudiés depuis de nombreuses années dans le sud de la France sous l'angle de leur fonctionnement global et dans des conditions pédoclimatiques spécifiques de la zone sud d'où la difficulté pour transposer ces résultats en région Grand Est et plus généralement dans la moitié nord de la France. **Il existe un besoin d'acquisition de données sur les interactions interspécifiques incluant des combinaisons d'espèces variées dans ces conditions pédoclimatiques spécifiques afin de trouver un compromis de performances entre productivité économique et résilience écologique (notion de multifonctionnalité des systèmes agroforestiers définie par Lovell *et al.*, 2018). En effet, indépendamment des convictions des exploitants, le frein majeur à la dissémination de ces systèmes reste le manque de références.**

Les systèmes agroforestiers peuvent être très diversifiés tant du point de vue des espèces associées (410 espèces ligneuses et 276 espèces herbacées répertoriées à l'échelle mondiale) que de leurs fonctions (alimentation humaine, production fourragère ou énergétique) selon les climats considérés (Wolz et DeLucia, 2018). Si en climat tempéré, la fonction principale de l'introduction des arbres est la production de bois-biomasse (82% des cas), la forte représentativité d'espèces ligneuses fixatrices d'N en systèmes tropicaux suggère aussi une recherche de mécanismes de facilitation vis-à-vis de la culture herbacée (Wolz et DeLucia, 2018).

L'hypothèse centrale des associations agroforestières s'appuie sur une utilisation complémentaire des ressources du milieu par les espèces associées. Cette hypothèse est basée sur la théorie écologique de complémentarité de niche qui suggère que la présence de plusieurs espèces compétitives dans un même milieu induit une différenciation ou ségrégation spatiale de niches (i.e. exploitation de ressources différentes) permettant la coexistence de ces dernières sans exclusion compétitive. **La sélection des espèces à implanter en agroforesterie doit s'appuyer sur la complémentarité de traits fonctionnels** permettant l'expression de :

- processus de complémentarité de niche se traduisant par l'utilisation de différentes formes d'une même ressource (Chen *et al.*, 2014), ou par une différenciation spatiale ou temporelle des ressources (Kahmen *et al.*, 2006, Ashton *et al.*, 2010). Ces processus de complémentarité de niche sont décrits dans les systèmes agroforestiers pour favoriser l'accès à l'eau et à l'N (Jose *et al.*, 2000a, 2000b).
- processus de facilitation correspondant à une situation où la présence d'une espèce permet, via la création de conditions favorables, l'installation, la vie ou la survie d'autres espèces (Callaway 1995). L'augmentation de la disponibilité des ressources minérales du sol, via la fixation symbiotique de N, la mobilisation du phosphore ou du fer ou les transferts d'éléments minéraux entre les espèces (Brooker *et al.*, 2008 ; Li *et al.*, 2014 ; Isaac *et al.*, 2012), est un mécanisme majeur de la facilitation.

Dans la pratique, il est difficile de distinguer les effets isolés de ces deux processus (Loreau et Hector, 2001), néanmoins ils peuvent conduire dans le cas des associations d'espèces à des effets d'overyielding en comparaison d'un couvert mono-spécifique (Jose *et al.*, 2004) qui dans les systèmes agroforestiers se traduisent par des valeurs de LER (land equivalent ratio) supérieures à 1. Si la facilitation est un mécanisme écologique très étudié dans les écosystèmes naturels, les systèmes



agroforestiers intégrant des espèces fixatrices d'N constituent ainsi un excellent modèle encore sous étudié actuellement en milieu tempéré.

Le sens et la magnitude de la résultante nette de ces interactions sont largement déterminés par la capacité d'exploitation et d'absorption des ressources du sol qui sont le plus souvent distribuées spatialement de façon hétérogène. Le succès des interactions en agroforesterie dépend ainsi largement des différences de fonctionnement et/ou de distribution des systèmes racinaires qui en comparaison avec des peuplements monospécifiques permettent une exploration et acquisition plus complète des éléments minéraux du sol et en résultante une amélioration du bouclage des cycles. Isaac et Borden (2019) ont ainsi proposé un cadre conceptuel pour aborder l'acquisition des éléments minéraux en considérant les traits racinaires et les processus associés. En effet, il existe, dans la zone d'interaction entre les espèces associées, un gradient de traits d'acquisition inhérent à des stratégies, soit compétitives, soit conservatives, susceptibles d'altérer un ensemble de processus chimiques et microbiens et d'induire des situations de compétition ou de facilitation pour les nutriments (Isaac et Borden, 2019 ; Duan *et al.*, 2017 ; Borden *et al.*, 2020 ; Isaac *et al.*, 2017). **Néanmoins, s'il est reconnu que les processus microbiens sont essentiels dans l'acquisition des nutriments, les travaux actuels de caractérisation des interactions racinaires entre les espèces associées n'incluent pas explicitement la description des communautés microbiennes suggérant un trou de connaissances sur la façon dont la structure de ces dernières peut affecter les processus de facilitation entre les espèces** (Rodriguez-Echeverria *et al.*, 2016 ; Montesinos-Navarro *et al.*, 2019 ; Kandlikar *et al.*, 2019).

#### 4.4.4- Objectifs, hypothèses et site expérimental

**La question de recherche centrale est la suivante : "Quelles performances écologiques des associations agroforestières vis-à-vis de l'efficacité d'utilisation des nutriments (N et S) ?". L'objectif général est d'étudier, dans des associations agroforestières intégrant des espèces fixatrices N (herbacée ou ligneuse), la dynamique spatiale et temporelle des communautés microbiennes du sol (continuum sol, rhizosphère, endophyte) ainsi que leurs rôles dans les interactions écologiques souterraines en lien avec l'acquisition de N et S.**

De façon plus focalisée, il s'agira (i) d'évaluer les évolutions spatiales et temporelles des communautés microbiennes sous les associations agroforestières en comparaison de peuplements en pur et (ii) de considérer simultanément les traits racinaires et aériens des espèces associées, les changements de qualité des MOS et les communautés microbiennes fonctionnellement aptes à améliorer d'une part la disponibilité en N et en S (effets biofertilisants au travers de l'optimisation du recyclage interne des éléments entre les pools organiques et inorganiques) et d'autre part la capacité des plantes à intercepter ces nutriments (effets biostimulants au travers de la modulation des caractéristiques racinaires) en plus des micro-organismes susceptibles de contractualiser des associations symbiotiques pour lesquels des effets de facilitation sont déjà décrits dans la littérature (Montesinos-Navarro *et al.*, 2019).

**Cette question de recherche se décline en deux hypothèses principales qui seront vérifiées soit *in situ* ou en conditions contrôlées :**

- L'introduction d'arbres dans les systèmes agricoles crée une hétérogénéité spatiale des ressources du sol (déposition de C et disponibilité en éléments minéraux) conduisant à une variation des valeurs de traits racinaires chez l'espèce herbacée, susceptible de moduler les caractéristiques taxonomiques et fonctionnelles des communautés microbiennes.
- En présence d'une association, les communautés microbiennes du sol renforcent directement et/ou indirectement les interactions positives entre les espèces associées vis-à-vis des ressources en éléments minéraux. En effet, les communautés microbiennes du sol ont la capacité :

- (i) d'augmenter la disponibilité en N et S minéral du fait de certains de leurs traits fonctionnels (capacité de minéralisation de N et S organique, efficacité d'utilisation de N et S) modulés par la quantité/qualité des MOS,
- (ii) de modifier les traits morpho-physiologiques racinaires des espèces associées et améliorer leur capacité d'interception et de prélèvement des éléments.

Ce projet s'inscrit pleinement dans les axes de recherche développés sur le site expérimental instrumenté installé en 2014 sur la ferme expérimentale de la Bouzule. **Le site expérimental présente deux types de associations agroforestières : aulne/prairie temporaire (ray-grass anglais et fétuque) et peuplier/prairie artificielle (trèfle), ainsi que chaque peuplement (arbre et herbacé) en pur équivalent (Figure 52). Il s'agit d'un système bas intrants (aucune intervention phytosanitaire sur les modalités agricoles et agroforestières et aucune fertilisation minérale sur les modalités incluant les espèces fixatrices de N) car dans les écosystèmes naturels, il est souvent fait état d'une résultante nette des interactions plante-plante en faveur de la facilitation en situation de stress abiotique. Différentes variables biophysiques sont suivies depuis la mise en place de ce site atelier tant sur le compartiment aérien (Thomas *et al.*, sous presse) que souterrain (Clivot *et al.*, 2019). Les observations visuelles et les mesures indiquent des interactions déjà fortes entre les espèces associées et les résultats les plus récents acquis ont notamment permis de mettre en évidence des effets de facilitation dans l'association peuplier/prairie artificielle (Thomas *et al.*, sous presse). Ces éléments me permettent ainsi d'envisager sereinement la caractérisation temporelle et spatiale des communautés microbiennes *in situ* et l'étude, en conditions contrôlées, des mécanismes d'interactions plante-plante proposées conjointement dans le projet proposé.**

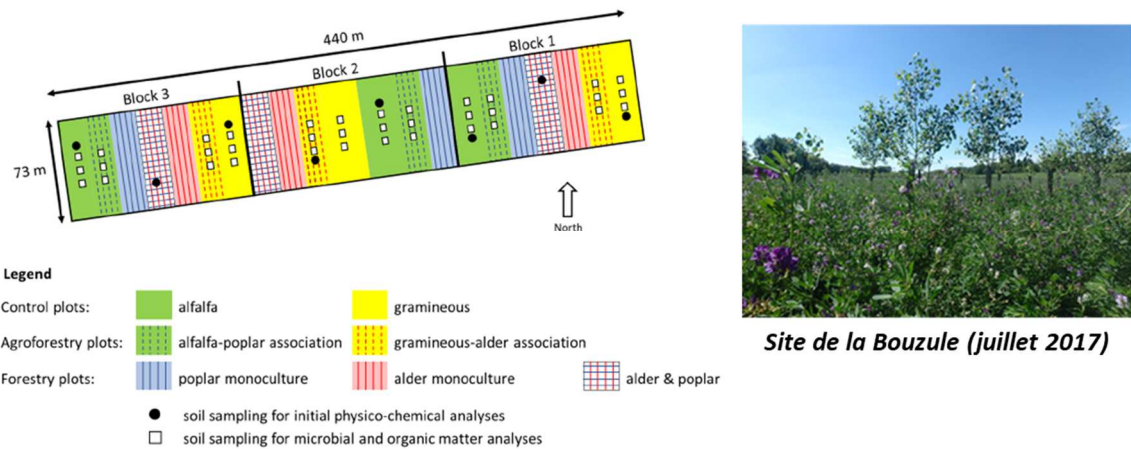


Figure 52 : Site instrumenté de la Bouzule

#### 4.4.4.1- Evolution temporelle de la diversité des communautés microbiennes dans les associations et effet de la variabilité spatiale sur les variables du sol en lien avec la dynamique des pools de N et S

L'introduction d'arbres dans les systèmes agricoles crée une hétérogénéité spatiale des ressources du sol conduisant à une variation des valeurs de traits racinaires chez l'espèce herbacée, susceptible de moduler les caractéristiques taxonomiques et fonctionnelles des communautés microbiennes. **L'arbre peut ainsi être à l'origine de changements de stœchiométrie des MOS et/ou d'une sélection de taxons microbiens (changement des équilibres bactéries/champignons).** Ces effets peuvent dépendre à la fois de la distance à l'arbre et de la profondeur d'enracinement (notion d'hétérogénéité

spatiale) mais aussi de la phénologie des espèces associées, susceptibles de moduler à la fois les entrées de C dans le sol et les besoins en éléments minéraux (notion de variabilité temporelle). Depuis l'installation du site en 2014, des échantillons de sol ont été prélevés, chaque année selon une grille spatialisée fixe, et congelés en attente d'analyses moléculaires. Ces analyses seront réalisées dans le cadre du projet afin de comparer les évolutions temporelles de la structure et de la diversité des communautés microbiennes dans les associations agroforestières et les peuplements en pur depuis 2014. Les caractéristiques taxonomiques des communautés microbiennes seront appréhendées par des outils moléculaires permettant d'accéder à l'abondance des bactéries et des champignons (qPCR 16S et 18S, Clivot *et al.*, 2019) ainsi qu'à leur diversité (métabarcoding). Les caractéristiques fonctionnelles seront abordées via le suivi des activités enzymatiques en lien avec les cycles C, N et S ainsi que des potentiels de minéralisation de N et S. Les ratios stœchiométriques obtenus sur les enzymes seront analysés en regard des équilibres microbiens (ratios entre bactéries/champignons et entre taxons), de la stœchiométrie des pools de MOS et des caractéristiques des litières racinaires et aériennes des espèces végétales. La question de la distance jusqu'à laquelle la présence de l'arbre peut affecter les traits aériens et souterrains de la culture associée ainsi que la résilience des communautés microbiennes reste souvent posée (Guillot *et al.*, 2019 ; Rouspard *et al.*, 2020). Aussi, une approche de géostatistique sera mobilisée pour déterminer la distance d'influence de l'arbre sur les variables physicochimiques et microbiennes en lien avec les flux nets de N et S. Des échantillons de sols seront prélevés deux fois par an (printemps et automne), selon un échantillonnage spatialisé en considérant la distance à l'arbre (tenant compte de l'étendue latérale du houppier) et la profondeur d'enracinement de façon à cerner l'effet de l'enracinement de l'arbre sur la stœchiométrie des MOS sur la profondeur de sol.

#### *4.4.4.2- Caractérisation des mécanismes à l'origine des interactions plante-plante au niveau souterrain et du rôle des communautés microbiennes l'efficacité d'utilisation de N et S.*

Les plantes optimisent leurs performances en termes de morphologie et d'activité physiologique lorsqu'elles doivent partager des ressources avec des plantes associées de la même espèce ou d'une espèce différente (Cai *et al.*, 2009). Cette optimisation est notamment liée à des modifications de traits morphologiques et physiologiques qui dépendent en partie des variables édaphiques. Il s'agira pour cette action de cultiver, dans des pots en conditions contrôlées (chambre phytotronique) pour s'affranchir de la variabilité climatique, les deux associations suivies *in situ* ainsi que chaque espèce en pur sur deux types de sols présentant des niveaux de fertilité N et S contrastés. Des pré-tests de culture en association seront effectués en s'inspirant de travaux proches de la littérature (Guo *et al.*, 2018). **Il s'agira de caractériser en conditions contrôlées les mécanismes à l'origine des interactions entre les espèces associées au niveau souterrain (compétition, facilitation, complémentarité de niches entre les différentes espèces associées) et le rôle direct ou indirect des communautés microbiennes dans ces interactions (Figure 53).**

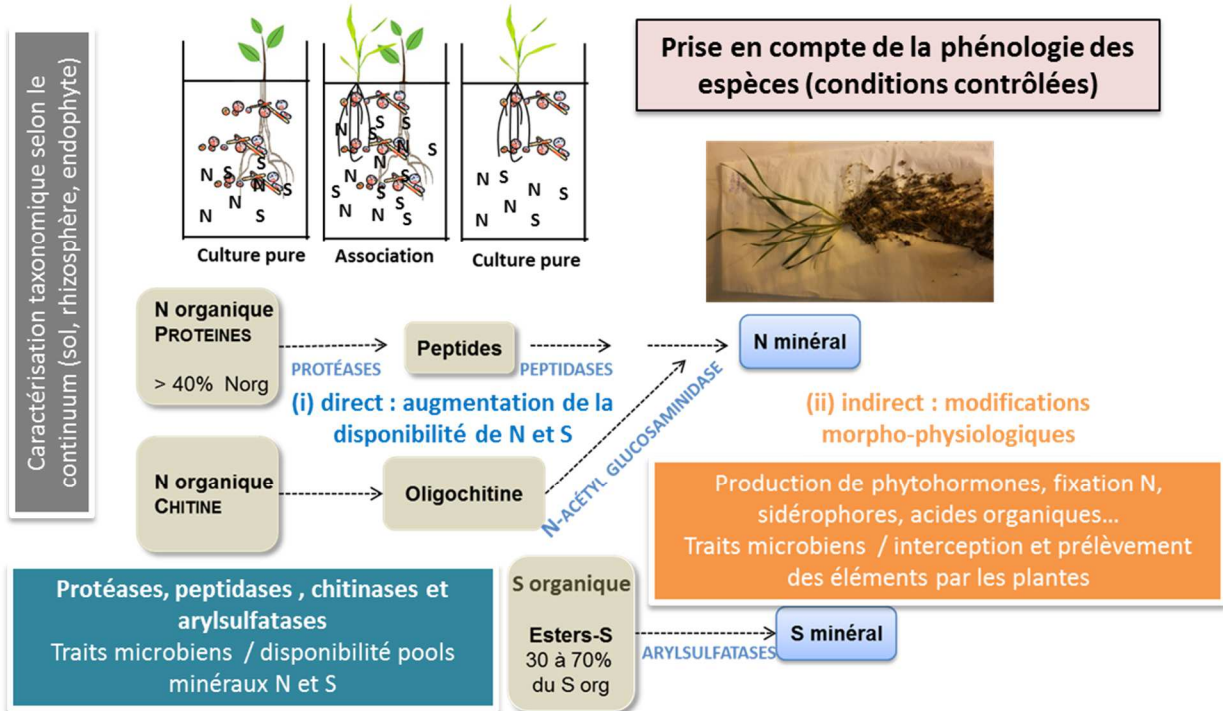


Figure 53 : Caractérisation des effets directs et indirects des communautés microbiennes sur les interactions plante-plante dans les associations.

Différentes variables seront suivies au cours du cycle de développement des espèces avec sacrifice de pots à différents stades de développement afin de prendre en compte les effets de la phénologie (modulation des entrées de C dans le sol et des besoins en éléments minéraux des plantes associées) sur les interactions écologiques. Les variables mesurées au niveau des parties aériennes permettront de voir les effets de l'association sur la croissance, l'assimilation photosynthétique et l'assimilation de N et S des deux espèces associées. Au niveau des parties racinaires, l'évolution de la croissance sera suivie au cours du développement grâce à l'utilisation de l'outil WinRhizo qui permet de scanner le système racinaire échantillonné à chaque stade de développement et d'obtenir après analyse d'image, des mesures de traits racinaires, modulant l'efficacité d'interception des nutriments par les plantes (Foulkes *et al.*, 2009). L'efficacité d'absorption de N et S sera mesurée par marquage au  $^{15}\text{N}$  et  $^{34}\text{S}$  sur une période de 24h à 48h avant sacrifice des plantes (Legay *et al.*, 2014). La mesure de cette efficacité pourra être complétée par des analyses d'expression des transporteurs racinaires de nitrates et de sulfates (Bouguyon *et al.*, 2015). Au niveau du sol, les évolutions quantitatives et qualitatives des pools plus ou moins labiles de C, N, S seront mises en relation avec les flux nets de minéralisation de N et S qui rendront compte de la capacité du sol à fournir des éléments minéraux. Les indicateurs de diversité taxonomique à l'échelle des communautés microbiennes seront déterminés grâce à l'utilisation d'une approche de métagénomique (collaboration avec l'UMR Agroécologie, Dijon) et les traits fonctionnels microbiens suivis seront des variables (i) d'activité des communautés microbiennes correspondant aux activités enzymatiques impliquées dans la minéralisation des éléments nutritifs N et S (protéase, amino-peptidases, ARS,...), (ii) d'efficacité d'utilisation des éléments minéraux N et S. L'usage de traceurs isotopiques ( $^{34}\text{S}$  et  $^{15}\text{N}$ ) (collaborations avec l'UMR SILVA et l'UR BEF) nous permettra d'accéder en conditions contrôlées à l'efficacité d'utilisation de N et S, tant pour chacune des espèces associées que pour les communautés microbiennes.

Du point de vue scientifique, la prise en compte du rôle de micro-organismes (abondance, diversité et fonctionnalité) dans les interactions écologiques souterraines entre arbre-herbacée en lien avec l'acquisition des éléments minéraux n'a que peu été abordé dans la littérature.

Le projet présente les originalités suivantes :

- focus sur des associations agroforestières plutôt que des mélanges herbacés pour les éléments suivants : i) la capacité des arbres à améliorer le bouclage des cycles en évitant des pertes d'éléments et ii) des complémentarités fonctionnelles attendues plus fortes entre des arbres et des herbacées du fait de stratégies écologiques, de traits d'architecture racinaires et de niveaux de plasticité plus contrastés. Les associations étudiées intègrent systématiquement une espèce (ligneuse ou herbacée) fixatrice d'N de façon à maximiser la mise en place de mécanismes écologiques de facilitation et acquérir des données sur des associations encore peu développées en milieu tempéré du fait d'une orientation vers un choix d'essences à vocation de bois-biomasse.
- prise en compte des caractéristiques microbiennes dans les interactions écologiques souterraines en abordant leurs effets sur les cycles de N et S en couplage car chez les espèces fixatrices de N, l'assimilation et la remobilisation de N sont favorisées par la disponibilité en S (Varin et al., 2010).
- complémentarité des questionnements et des approches menées en situation réelle sur le site expérimental instrumenté installé en 2014 et en conditions contrôlées.

Les résultats obtenus dans le cadre de ce projet seront valorisés sous forme de publications scientifiques dans des revues internationales à comité de lecture. De plus, de nombreux exploitants agricoles en région Grand Est avancent l'argument d'une recherche d'amélioration du fonctionnement biologique des sols pour justifier le choix de l'agroforesterie. Les interactions avec les chambres d'agricultures sur ce projet permettront d'assurer une dissémination des résultats sous un autre format que les publications scientifiques.

## 5- Conclusion générale

J'ai eu la chance au cours de mon parcours en recherche de conserver un fil conducteur global autour des effets du C sur le fonctionnement microbien du sol. Au fil des collaborations, ce thème s'est ouvert sur d'autres disciplines notamment l'écologie fonctionnelle, l'agroécologie en maintenant les communautés microbiennes comme un objet d'étude dans les processus écologiques relevant des interactions sol-plante. Ces dernières années, j'ai eu l'opportunité grâce aux orientations de R&D de la ferme expérimentale de la Bouzule et d'un partenariat avec l'Idel de changer d'échelle en ne considérant non plus isolément les effets du C sur les communautés microbiennes mais plus largement les effets des pratiques agricoles sur les MOS et la fertilité biologique des sols. Ceci m'a ainsi permis d'une part d'associer la recherche plus fondamentale à des finalités appliquées de manière simple et efficiente et d'autre part de créer un réseau mobilisant différents acteurs (agriculteurs, instituts techniques, chambres d'agriculture et firmes phytosanitaires). Cette capacité de mobilisation des acteurs est en grande partie liée à ma composante universitaire de rattachement qui est une école d'ingénieurs. Une grande partie des partenaires non académiques avec qui j'ai travaillé ces dernières années sont des ingénieurs diplômés de l'ENSAIA dont certains que j'ai eu comme élève ou des acteurs recherchant des compétences de R&D déployées au sein de la ferme expérimentale de la Bouzule. Dans le contexte de la transition agroécologique et énergétique qui se déploie actuellement sur la région Grand-Est, ces partenariats seront encore amplifiés dans les années à venir notamment au travers des deux chaires Bio4solutions et Agrométhas qui existent depuis cette année à l'ENSAIA. La création de ces deux chaires constitue pour moi une réelle opportunité d'inscrire mes activités de recherche dans un contexte socio-économique plus global, de mieux formaliser certaines collaborations et d'acquiescer plus de visibilité sur la thématique de recherche que je développe et qui n'est pas affichée comme un axe de recherche prioritaire de l'équipe de recherche dans laquelle j'évolue actuellement au sein du LAE. L'obtention de l'HDR me permettra dans les années à venir de pouvoir encadrer officiellement des doctorants, ce qui est un point essentiel de nos missions de recherche.



## 6- Bibliographie citée

- ✓ Accoe, F., Boeckx, P., Van Cleemput, O., Hofman, G., Hui, X., Bin, H., Guanxiong, C. (2002). Characterization of soil organic matter fractions from grassland and cultivated soils via C content and  $\delta^{13}\text{C}$  signature. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 16(23), 2157-2164.
- ✓ Acosta-Martinez, V., Tabatabai, M. A. (2000). Enzyme activities in a limed agricultural soil. *Biology and fertility of soils*, 31(1), 85-91.
- ✓ Acosta-Martinez, V., Cruz, L., Sotomayor-Ramirez, D., Pérez-Alegría, L. (2007). Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. *Applied Soil Ecology*, 35(1), 35-45.
- ✓ Adhikari, K., Hartemink, A. E. (2016). Linking soils to ecosystem services—A global review. *Geoderma*, 262, 101-111.
- ✓ Alburquerque, J. A., De la Fuente, C., Campoy, M., Carrasco, L., Nájera, I., Baixauli, C., ... Bernal, M. P. (2012a). Agricultural use of digestate for horticultural crop production and improvement of soil properties. *European Journal of Agronomy*, 43, 119-128.
- ✓ Alburquerque, J. A., de la Fuente, C., Bernal, M. P. (2012b). Chemical properties of anaerobic digestates affecting C and N dynamics in amended soils. *Agriculture, ecosystems & environment*, 160, 15-22.
- ✓ Allison, S. D. (2005). Cheaters, diffusion and nutrients constrain decomposition by microbial enzymes in spatially structured environments. *Ecology Letters*, 8(6), 626-635.
- ✓ Alvey, S., Yang, C. H., Bürkert, A., Crowley, D. E. (2003). Cereal/legume rotation effects on rhizosphere bacterial community structure in West African soils. *Biology and Fertility of Soils*, 37(2), 73-82.
- ✓ Anderson, T. H., Domsch, K. H. (1989). Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. *Soil biology and biochemistry*, 21(4), 471-479.
- ✓ Aneja, M. K., Sharma, S., Fleischmann, F., Stich, S., Heller, W., Bahnweg, G., ... Schloter, M. (2006). Microbial colonization of beech and spruce litter—influence of decomposition site and plant litter species on the diversity of microbial community. *Microbial Ecology*, 52(1), 127-135.
- ✓ Ashton, I. W., Miller, A. E., Bowman, W. D., Suding, K. N. (2010). Niche complementarity due to plasticity in resource use: plant partitioning of chemical N forms. *Ecology*, 91(11), 3252-3260.
- ✓ Attard, E., Recous, S., Chabbi, A., De Berranger, C., Guillaumaud, N., Labreuche, J., ... Le Roux, X. (2011). Soil environmental conditions rather than denitrifier abundance and diversity drive potential denitrification after changes in land uses. *Global Change Biology*, 17(5), 1975-1989.
- ✓ Balesdent, J. (1996). Un point sur l'évolution des réserves organiques des sols en France. *Etude et Gestion des sols*, 3, 245-260.
- ✓ Bandick A.K., Dick R.P. (1999) Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biology & Biochemistry*, 31, 1471-1479.
- ✓ Barrow, N. J. (1960). A comparison of the mineralization of nitrogen and of sulphur from decomposing organic materials. *Australian Journal of Agricultural Research*, 11(6), 960-969.
- ✓ Bedos, C., Cellier, P., Calvet, R., Barriuso, E. (2002). Occurrence of pesticides in the atmosphere in France. *Agronomie*, 22(1), 35-49.
- ✓ Beketov, M. A., Kefford, B. J., Schäfer, R. B., Liess, M. (2013). Pesticides reduce regional biodiversity of stream invertebrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(27), 11039-11043.
- ✓ Bell, C., Carrillo, Y., Boot, C. M., Rocca, J. D., Pendall, E., Wallenstein, M. D. (2014). Rhizosphere stoichiometry: are C: N: P ratios of plants, soils, and enzymes conserved at the plant species-level?. *New Phytologist*, 201(2), 505-517.
- ✓ Bever, J. D., Westover, K. M., Antonovics, J. (1997). Incorporating the soil community into plant population dynamics: the utility of the feedback approach. *Journal of Ecology*, 561-573.
- ✓ Bhupinderpal-Singh, Rengel, Z., Bowden, J. W. (2006). Carbon, nitrogen and sulphur cycling following incorporation of canola residue of different sizes into a nutrient-poor sandy soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(1), 32-42.
- ✓ Biederbeck, V. O. (1978). Soil organic sulfur and fertility. In *Developments in soil science* (Vol. 8, pp. 273-310). Elsevier.
- ✓ Blagodatskaya, E., Kuzyakov, Y. (2008). Mechanisms of real and apparent priming effects and their dependence on soil microbial biomass and community structure : critical review. *Biology and Fertility of Soils*, 45(2), 115-131.
- ✓ Blagodatskaya, E., Kuzyakov, Y. (2013). Active microorganisms in soil: critical review of estimation criteria and approaches. *Soil Biology and Biochemistry*, 67, 192-211.
- ✓ Blagodatskaya, E., Blagodatsky, S., Anderson, T. H., Kuzyakov, Y. (2014). Microbial growth and carbon use efficiency in the rhizosphere and root-free soil. *PLoS one*, 9(4).

- ✓ Bloem, E., Haneklaus, S., Schnug, E. (2005). Influence of nitrogen and sulfur fertilization on the alliin content of onions and garlic. *Journal of Plant Nutrition*, 27(10), 1827-1839.
- ✓ Borden, K. A., Thomas, S. C., Isaac, M. E. (2020). Variation in fine root traits reveals nutrient-specific acquisition strategies in agroforestry systems. *Plant and Soil*, 453(1), 139-151.
- ✓ Bouguyon, E., Brun, F., Meynard, D., Kubeš, M., Pervent, M., Leran, S., ... Hoyerová, K. (2015). Multiple mechanisms of nitrate sensing by *Arabidopsis* nitrate transceptor NRT1. 1. *Nature Plants*, 1(3), 1-8.
- ✓ Bouthier, A., Bonnifet, J. P., Drieu, Y., Seguin, A., Gatay, D. (2007). Mieux prévoir le risque de déficience. *Perspectives agricoles*, (330), 54.
- ✓ Brooker, R. W., Maestre, F. T., Callaway, R. M., Lortie, C. L., Cavieres, L. A., Kunstler, G., ... Armas, C. (2008). Facilitation in plant communities: the past, the present, and the future. *Journal of ecology*, 18-34.
- ✓ Bünemann, E. K., Schwenke, G. D., & Van Zwieten, L. (2006). Impact of agricultural inputs on soil organisms—a review. *Soil Research*, 44(4), 379-406.
- ✓ Cai, Z. Q., Schnitzer, S. A., Bongers, F. (2009). Seasonal differences in leaf-level physiology give lianas a competitive advantage over trees in a tropical seasonal forest. *Oecologia*, 161(1), 25-33.
- ✓ Callaway, R. M. (1995). Positive interactions among plants. *The Botanical Review*, 61(4), 306-349.
- ✓ Cardinael, R., Guenet, B., Chevallier, T., Dupraz, C., Cozzi, T., Chenu, C. (2018). High organic inputs explain shallow and deep SOC storage in a long-term agroforestry system—combining experimental and modeling approaches. *Biogeosciences, European Geosciences Union*, 15 (1), 297-317.
- ✓ Carpenter, S. R., DeFries, R., Dietz, T., Mooney, H. A., Polasky, S., Reid, W. V., Scholes, R. J. (2006). Millennium ecosystem assessment: research needs. *Science*, 314, 257-258.
- ✓ Cassman, K. G. (1999). Ecological intensification of cereal production systems: yield potential, soil quality, and precision agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(11), 5952-5959.
- ✓ Chapman, S. J. (1997). Carbon substrate mineralization and sulphur limitation. *Soil Biology and Biochemistry*, 29(2), 115-122.
- ✓ Chen, J., Duan, B., Wang, M., Korpelainen, H., Li, C. (2014). Intra-and inter-sexual competition of *Populus cathayana* under different watering regimes. *Functional Ecology*, 28(1), 124-136.
- ✓ Chowdhury, M. A. H., Kouno, K., Ando, T. (2000). Critical sulphur concentration and sulphur requirement of microbial biomass in a glucose and cellulose-amended regosol. *Biology and fertility of soils*, 32(4), 310-317.
- ✓ Cleveland, C. C., Liptzin, D. (2007). C: N: P stoichiometry in soil: is there a “Redfield ratio” for the microbial biomass?. *Biogeochemistry*, 85(3), 235-252.
- ✓ Conway, G. R. (1984). What is an agroecosystem and why is it worthy of study?. *An introduction to human ecology research in agriculture systems in Southeast Asia. University of the Philippines at Los Banos, Laguna, Philippines*, 25-38.
- ✓ Cookson, W. R., Osman, M., Marschner, P., Abaye, D. A., Clark, I., Murphy, D. V., ... Watson, C. A. (2007). Controls on soil nitrogen cycling and microbial community composition across land use and incubation temperature. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(3), 744-756.
- ✓ Cools, N., Vesterdal, L., De Vos, B., Vanguelova, E., Hansen, K. (2014). Tree species is the major factor explaining C: N ratios in European forest soils. *Forest Ecology and Management*, 311, 3-16.
- ✓ Cregut, M., Piutti, S., Vong, P. C., Slezack-Deschaumes, S., Crovisier, I., Benizri, E. (2009). Density, structure, and diversity of the cultivable arylsulfatase-producing bacterial community in the rhizosphere of field-grown rape and barley. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(4), 704-710.
- ✓ Cregut, M., Piutti, S., Slezack-Deschaumes, S., Benizri, E. (2013). Compartmentalization and regulation of arylsulfatase activities in *Streptomyces* sp., *Microbacterium* sp. and *Rhodococcus* sp. soil isolates in response to inorganic sulfate limitation. *Microbiological research*, 168(1), 12-21.
- ✓ Curtin, D., Campbell, C.A., 2007. Mineralizable Nitrogen, in: Carter, M.R., Gregorich, E.G. (Eds.), *Soil Sampling and Methods of Analysis*. CRC Press, pp. 599–606.
- ✓ Curtin, D., Beare, M. H., Lehto, K., Tregurtha, C., Qiu, W., Tregurtha, R., Peterson, M. (2017). Rapid assays to predict nitrogen mineralization capacity of agricultural soils. *Soil Science Society of America Journal*, 81(4), 979-991
- ✓ De Deyn, G. B., Quirk, H., Yi, Z., Oakley, S., Ostle, N. J., Bardgett, R. D. (2009). Vegetation composition promotes carbon and nitrogen storage in model grassland communities of contrasting soil fertility. *Journal of Ecology*, 97(5), 864-875.
- ✓ Dedourge, O., Vong, P. C., Lasserre-Joulin, F., Benizri, E., Guckert, A. (2003). Immobilization of sulphur-35, microbial biomass and arylsulphatase activity in soils from field-grown rape, barley and fallow. *Biology and fertility of soils*, 38(3), 181-185.

- ✓ Dedouge, O., Vong, P. C., Lasserre-Joulin, F., Benizri, E., Guckert, A. (2004). Effects of glucose and rhizodeposits (with or without cysteine-S) on immobilized-35S, microbial biomass-35S and arylsulphatase activity in a calcareous and an acid brown soil. *European journal of soil science*, 55(4), 649-656.
- ✓ Diot, Florent. *Contribution à l'étude de la dynamique du soufre en sols cultivés lorrains*. 1991. Thèse de doctorat. INPL Nancy.
- ✓ Dodgson, K. S., White, G., Fitzgerald, J. W. (1982). Sulphatase enzyme of microbial origin, Vol. I. *CRC, Boca Raton, FL*, 1.
- ✓ Dominati, E., Patterson, M., Mackay, A. (2010). A framework for classifying and quantifying the natural capital and ecosystem services of soils. *Ecological economics*, 69(9), 1858-1868.
- ✓ Drinkwater, L. E., Snapp, S. (2007). Nutrients in agroecosystems: rethinking the management paradigm. *Advances in Agronomy*, 92, 163-186.
- ✓ Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3-14.
- ✓ Duan, Z. P., Gan, Y. W., Wang, B. J., Hao, X. D., Xu, W. L., Zhang, W., Li, L. H. (2019). Interspecific interaction alters root morphology in young walnut/wheat agroforestry systems in northwest China. *Agroforestry Systems*, 93(2), 419-434.
- ✓ Dupraz, C., Capillon, A. (2005). L'agroforesterie : une voie de diversification écologique de l'agriculture européenne. Cahier d'études DEMETER. Economie et Stratégie agricole, Paris, 101-113.
- ✓ Ekschmitt, K., Liu, M., Vetter, S., Fox, O., Wolters, V. (2005). Strategies used by soil biota to overcome soil organic matter stability—why is dead organic matter left over in the soil?. *Geoderma*, 128(1-2), 167-176.
- ✓ El Sebai, T., Lagacherie, B., Soulas, G., Martin-Laurent, F. (2007). Spatial variability of isoproturon mineralizing activity within an agricultural field: geostatistical analysis of simple physicochemical and microbiological soil parameters. *Environmental Pollution*, 145(3), 680-690.
- ✓ Eriksen, J. (1994). Soil organic matter as a source of plant-available sulphur. *Norwegian Journal of Agricultural Sciences (Norway)*. no. 15 (suppl.).(NLH accession no. NOR).
- ✓ Eriksen, J., Murphy, M. D., Schnug, E. (1998). The soil sulphur cycle. In *Sulphur in agroecosystems* (pp. 39-73). Springer, Dordrecht.
- ✓ Fanin, N., Fromin, N., Buatois, B., Hättenschwiler, S. (2013). An experimental test of the hypothesis of non-homeostatic consumer stoichiometry in a plant litter–microbe system. *Ecology Letters*, 16(6), 764-772.
- ✓ Fierer, N., Schimel, J. P., Holden, P. A. (2003). Variations in microbial community composition through two soil depth profiles. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(1), 167-176.
- ✓ Fierer, N., Bradford, M. A., Jackson, R. B. (2007). Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*, 88(6), 1354-1364.
- ✓ Fitzgerald, J. W., Luschinski, P. C., Scott, C. L. (1978). Utilization of choline sulphate for growth by a choline sulphohydrolase-deficient *Pseudomonas* species. *International Journal of Biochemistry*, 9(5), 343-347.
- ✓ Flury, M. (1996). Experimental evidence of transport of pesticides through field soils—a review. *Journal of environmental quality*, 25(1), 25-45.
- ✓ Fontaine, S., Barot, S. (2005). Size and functional diversity of microbe populations control plant persistence and long-term soil carbon accumulation. *Ecology Letters*, 8(10), 1075-1087.
- ✓ Fonte, S. J., Vanek, S. J., Oyarzun, P., Parsa, S., Quintero, D. C., Rao, I. M., Lavelle, P. (2012). Pathways to agroecological intensification of soil fertility management by smallholder farmers in the Andean Highlands. In *Advances in agronomy*, 116, 125-184.
- ✓ Foulkes, M. J., Hawkesford, M. J., Barraclough, P. B., Holdsworth, M. J., Kerr, S., Kightley, S., Shewry, P. R. (2009). Identifying traits to improve the nitrogen economy of wheat: recent advances and future prospects. *Field Crops Research*, 114(3), 329-342.
- ✓ Freney, J. R., Melville, G. E., Williams, C. H. (1971). Organic sulphur fractions labelled by addition of 35S-sulphate to soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 3(2), 133-141.
- ✓ Freney, J. R. (1986). Forms and reactions of organic sulfur compounds in soils. *Sulfur in agriculture*, 27, 207-232.
- ✓ Fujita, K., Miyabara, Y., Kunito, T. (2019). Microbial biomass and coenzymatic stoichiometries vary in response to nutrient availability in an arable soil. *European journal of soil biology*, 91, 1-8.
- ✓ García-Ruiz R., Ochoa V., Hinojosa M.B., Carreira J.A. (2008) Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems. *Soil Biology & Biochemistry*, 40, 2137-2145.
- ✓ Garnett, T., Conn, V., Kaiser, B. N. (2009). Root based approaches to improving nitrogen use efficiency in plants. *Plant, cell & environment*, 32(9), 1272-1283.
- ✓ Garnier, E., Navas, M. L. (2012). A trait-based approach to comparative functional plant ecology: concepts, methods and applications for agroecology. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(2), 365-399.

- ✓ Gavinelli, E., Feller, C., Larré-Larrouy, M. C., Bacye, B., Djegui, N., Nzila, J. D. D. (1995). A routine method to study soil organic matter by particle-size fractionation: Examples for tropical soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 26(11-12), 1749-1760.
- ✓ Geisseler, D., Horwath, W. R. (2008). Regulation of extracellular protease activity in soil in response to different sources and concentrations of nitrogen and carbon. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(12), 3040-3048.
- ✓ Geisseler, D., Horwath, W. R. (2009). Relationship between carbon and nitrogen availability and extracellular enzyme activities in soil. *Pedobiologia*, 53(1), 87-98.
- ✓ Gevao, B., Semple, K. T., Jones, K. C. (2000). Bound pesticide residues in soils: a review. *Environmental pollution*, 108(1), 3-14.
- ✓ Geyer, K. M., Kyker-Snowman, E., Grandy, A. S., Frey, S. D. (2016). Microbial carbon use efficiency: accounting for population, community, and ecosystem-scale controls over the fate of metabolized organic matter. *Biogeochemistry*, 127(2-3), 173-188.
- ✓ Ghani, A., McLarren, R. G., Swift, R. S. (1993). Mobilization of recently-formed soil organic sulphur. *Soil Biology and Biochemistry*, 25(12), 1739-1744.
- ✓ Gianfreda L., Ruggiero P. 2006. Enzyme Activities in Soil. In: P. Nannipieri and K. Smalls, Editors, *Nucleic Acids and Proteins in Soil* vol. 8, Springer, Berlin, pp. 257–311.
- ✓ Goux, X., Amiaud, B., Piutti, S., Philippot, L., Benizri, E. (2012). Spatial distribution of the abundance and activity of the sulfate ester-hydrolyzing microbial community in a rape field. *Journal of soils and sediments*, 12(9), 1360-1370.
- ✓ Griffiths, B. S. (1994). Microbial-feeding nematodes and protozoa in soil: Their effect on microbial activity and nitrogen mineralization in decomposition hotspots and the rhizosphere. *Plant and Soil*, 164(1), 25-33.
- ✓ Griffon, M. (2007). L'agriculture intensive devra connaître des changements inévitables. *Cahiers Agricultures*, 16(2), 85-86.
- ✓ Grundmann, G. L. (1990). The use of geostatistical methods in soil microbiology: a review. *Revue d'Écologie et de Biologie du Sol*, 27(4), 353-369.
- ✓ Guggenberger, G., Frey, S. D., Six, J., Paustian, K., Elliott, E. T. (1999). Bacterial and fungal cell-wall residues in conventional and no-tillage agroecosystems. *Soil Science Society of America Journal*, 63(5), 1188-1198.
- ✓ Guilayn, F., Jimenez, J., Martel, J. L., Rouez, M., Crest, M., Patureau, D. (2019). First fertilizing-value typology of digestates: A decision-making tool for regulation. *Waste Management*, 86, 67-79.
- ✓ Guillot, E., Hinsinger, P., Dufour, L., Roy, J., Bertrand, I. (2019). With or without trees: Resistance and resilience of soil microbial communities to drought and heat stress in a Mediterranean agroforestry system. *Soil Biology and Biochemistry*, 129, 122-135.
- ✓ Gunina, A., Kuzyakov, Y. (2015). Sugars in soil and sweets for microorganisms: Review of origin, content, composition and fate. *Soil Biology and Biochemistry*, 90, 87-100.
- ✓ Guo, Q., Song, H., Kang, J., Korpelainen, H., Li, C. (2018). Different responses in leaf-level physiology to competition and facilitation under different soil types and N fertilization. *Environmental and Experimental Botany*, 150, 69-78.
- ✓ Gupta, V. V. S. R., Lawrence, J. R., Germida, J. J. (1988). Impact of elemental sulfur fertilization on agricultural soils. I. Effects on microbial biomass and enzyme activities. *Canadian Journal of Soil Science*, 68(3), 463-473.
- ✓ Güsewell, S., Gessner, M. O. (2009). N: P ratios influence litter decomposition and colonization by fungi and bacteria in microcosms. *Functional Ecology*, 23(1), 211-219.
- ✓ Harari, Y. N. (2016). *Sapiens une brève histoire de l'humanité*. Editions Albin Michel.
- ✓ Hartman, W. H., Richardson, C. J. (2013). Differential nutrient limitation of soil microbial biomass and metabolic quotients (qCO<sub>2</sub>): is there a biological stoichiometry of soil microbes?. *PloS one*, 8(3).
- ✓ Hättenschwiler, S., Coq, S., Barantal, S., Handa, I. T. (2011). Leaf traits and decomposition in tropical rainforests: revisiting some commonly held views and towards a new hypothesis. *New Phytologist*, 189(4), 950-965.
- ✓ Heap, I. (2014). Global perspective of herbicide-resistant weeds. *Pest management science*, 70(9), 1306-1315.
- ✓ Helal, H. M., Sauerbeck, D. (1989). Carbon turnover in the rhizosphere. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, 152(2), 211-216.
- ✓ Hendriksen, N. B., Creamer, R. E., Stone, D., Winding, A. (2016). Soil exo-enzyme activities across Europe—The influence of climate, land-use and soil properties. *Applied soil ecology*, 97, 44-48.
- ✓ Hirel, B., Le Gouis, J., Ney, B., Gallais, A. (2007). The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. *Journal of experimental botany*, 58(9), 2369-2387.
- ✓ Hooper, D. U., Chapin, F. S., Ewel, J. J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., ... Schmid, B. (2005). Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological monographs*, 75(1), 3-35.



- ✓ Hu, Z., Yang, Z., Xu, C., Haneklaus, S., Cao, Z., Schnug, E. (2002). Effect of crop growth on the distribution and mineralization of soil sulfur fractions in the rhizosphere. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 165(3), 249-254.
- ✓ Huang, W., Yu, Z., Fu, J. (2003). Effects of organic matter heterogeneity on sorption and desorption of organic contaminants by soils and sediments. *Applied geochemistry*, 18(7), 955-972.
- ✓ Hütsch, B. W., Augustin, J., Merbach, W. (2002). Plant rhizodeposition—an important source for carbon turnover in soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 165(4), 397-407.
- ✓ Isaac, M. E., Hinsinger, P., Harmand, J. M. (2012). Nitrogen and phosphorus economy of a legume tree-cereal intercropping system under controlled conditions. *Science of the total environment*, 434, 71-78.
- ✓ Isaac, M. E., Martin, A. R., de Melo Virginio Filho, E., Rapidel, B., Rouspard, O., Van den Meersche, K. (2017). Intraspecific trait variation and coordination: Root and leaf economics spectra in coffee across environmental gradients. *Frontiers in plant science*, 8, 1196.
- ✓ Isaac, M. E., Borden, K. A. (2019). Nutrient acquisition strategies in agroforestry systems. *Plant and Soil*, 444(1-2), 1-19.
- ✓ Jan, M. T., Roberts, P., Tonheim, S. K., Jones, D. L. (2009). Protein breakdown represents a major bottleneck in nitrogen cycling in grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(11), 2272-2282.
- ✓ Jax, K. (2005). Function and “functioning” in ecology: what does it mean?. *Oikos*, 111(3), 641-648.
- ✓ Jayachandran, K., Stolpe, N. B., Moorman, T. B., Shea, P. J. (1998). Application of <sup>14</sup>C-most-probable-number technique to enumerate atrazine-degrading microorganisms in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 30(4), 523-529.
- ✓ Jensen, E. S., Peoples, M. B., Boddey, R. M., Gresshoff, P. M., Hauggaard-Nielsen, H., Alves, B. J., Morrison, M. J. (2012). Legumes for mitigation of climate change and the provision of feedstock for biofuels and biorefineries. A review. *Agronomy for sustainable development*, 32(2), 329-364.
- ✓ Jones, D. L., Murphy, D. V. (2007). Microbial response time to sugar and amino acid additions to soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(8), 2178-2182.
- ✓ Jones, D. L., Healey, J. R., Willett, V. B., Farrar, J. F., Hodge, A. (2005). Dissolved organic nitrogen uptake by plants—an important N uptake pathway?. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(3), 413-423.
- ✓ Jones, D. L., Kemmitt, S. J., Wright, D., Cuttle, S. P., Bol, R., Edwards, A. C. (2005). Rapid intrinsic rates of amino acid biodegradation in soils are unaffected by agricultural management strategy. *Soil biology and biochemistry*, 37(7), 1267-1275.
- ✓ Jose, S., Gillespie, A. R., Seifert, J. R., Biehle, D. J. (2000a). Defining competition vectors in a temperate alley cropping system in the midwestern USA: 2. Competition for water. *Agroforestry systems*, 48(1), 41-59.
- ✓ Jose, S., Gillespie, A. R., Seifert, J. R., Mengel, D. B., Pope, P. E. (2000b). Defining competition vectors in a temperate alley cropping system in the midwestern USA: 3. Competition for nitrogen and litter decomposition dynamics. *Agroforestry systems*, 48(1), 61-77.
- ✓ Jose, S., Gillespie, A. R., Pallardy, S. G. (2004). Interspecific interactions in temperate agroforestry. *Agroforestry Systems*, 61(1-3), 237-255.
- ✓ Kahmen, A., Renker, C., Unsicker, S. B., Buchmann, N. (2006). Niche complementarity for nitrogen: an explanation for the biodiversity and ecosystem functioning relationship? *Ecology*, 87(5), 1244-1255.
- ✓ Kaiser, C., Franklin, O., Dieckmann, U., Richter, A. (2014). Microbial community dynamics alleviate stoichiometric constraints during litter decay. *Ecology letters*, 17(6), 680-690.
- ✓ Kallenbach C. and Grand S.A. (2011) Controls over soil microbial biomass responses to carbon amendments in agricultural systems: A meta-analysis. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 144, 241–252.
- ✓ Kandlikar, G. S., Johnson, C. A., Yan, X., Kraft, N. J., Levine, J. M. (2019). Winning and losing with microbes: how microbially mediated fitness differences influence plant diversity. *Ecology letters*, 22(8), 1178-1191.
- ✓ Karlen, D. L., Ditzler, C. A., & Andrews, S. S. (2003). Soil quality: why and how?. *Geoderma*, 114(3-4), 145-156.
- ✓ Keiblinger, K. M., Hall, E. K., Wanek, W., Szukics, U., Hämmerle, I., Ellersdorfer, G., ... Zechmeister-Boltenstern, S. (2010). The effect of resource quantity and resource stoichiometry on microbial carbon-use-efficiency. *FEMS Microbiology Ecology*, 73(3), 430-440.
- ✓ Keith, H., Oades, J. M., Martin, J. K. (1986). Input of carbon to soil from wheat plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 18(4), 445-449.
- ✓ Kertesz, M. A., Leisinger, T., Cook, A. M. (1993). Proteins induced by sulfate limitation in *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida*, or *Staphylococcus aureus*. *Journal of bacteriology*, 175(4), 1187-1190.
- ✓ Kertesz, M. A. (2000). Riding the sulfur cycle—metabolism of sulfonates and sulfate esters in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 24(2), 135-175.
- ✓ Kertesz, M. A., Fellows, E., Schmalenberger, A. (2007). Rhizobacteria and plant sulfur supply. *Advances in applied microbiology*, 62, 235-268.

- ✓ Kim, D. G., Kirschbaum, M. U., & Beedy, T. L. (2016). Carbon sequestration and net emissions of CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O under agroforestry: Synthesizing available data and suggestions for future studies. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 226, 65-78.
- ✓ Kinzig, A. P., Harte, J. (1998). Selection of micro-organisms in a spatially explicit environment and implications for plant access to nitrogen. *Journal of Ecology*, 86(5), 841-853.
- ✓ Kirchmann, H., Pichlmayer, F., Gerzabek, M. H. (1996). Sulfur balances and sulfur-34 abundance in a long-term fertilizer experiment. *Soil Science Society of America Journal*, 60(1), 174-178.
- ✓ Kirkby, C. A., Kirkegaard, J. A., Richardson, A. E., Wade, L. J., Blanchard, C., Batten, G. (2011). Stable soil organic matter: a comparison of C: N: P: S ratios in Australian and other world soils. *Geoderma*, 163(3-4), 197-208.
- ✓ Kleber, M. (2010). What is recalcitrant soil organic matter?. *Environmental Chemistry*, 7(4), 320-332.
- ✓ Knights, J. S., Zhao, F. J., McGrath, S. P., Magan, N. (2001). Long-term effects of land use and fertiliser treatments on sulphur transformations in soils from the Broadbalk experiment. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(12-13), 1797-1804.
- ✓ Kögel-Knabner, I., Ekschmitt, K., Flessa, H., Guggenberger, G., Matzner, E., Marschner, B., von Lütow, M. (2008). An integrative approach of organic matter stabilization in temperate soils: Linking chemistry, physics, and biology. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 171(1), 5-13.
- ✓ Kuzyakov, Y., Domanski, G. (2000). Carbon input by plants into the soil. Review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 163(4), 421-431.
- ✓ Kuzyakov, Y. (2010). Priming effects: interactions between living and dead organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(9), 1363-1371.
- ✓ Kuzyakov, Y., Blagodatskaya, E. (2015). Microbial hotspots and hot moments in soil: concept & review. *Soil Biology and Biochemistry*, 83, 184-199.
- ✓ Ladha, J. K., Pathak, H., Krupnik, T. J., Six, J., van Kessel, C. (2005). Efficiency of fertilizer nitrogen in cereal production: retrospects and prospects. *Advances in agronomy*, 87, 85-156.
- ✓ Larkin, R. P. (2003). Characterization of soil microbial communities under different potato cropping systems by microbial population dynamics, substrate utilization, and fatty acid profiles. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(11), 1451-1466.
- ✓ Legay, N., Baxendale, C., Grigulis, K., Krainer, U., Kastl, E., Schloter, M., ... Poly, F. (2014a). Contribution of above- and below-ground plant traits to the structure and function of grassland soil microbial communities. *Annals of Botany*, 114(5), 1011-1021.
- ✓ Legay, N., Personeni, E., Slezacek-Deschaumes, S., Piutti, S., Cliquet, J. B. (2014b). Grassland species show similar strategies for sulphur and nitrogen acquisition. *Plant and soil*, 375(1-2), 113-126.
- ✓ Lehmann, J., Kleber, M. (2015). The contentious nature of soil organic matter. *Nature*, 528(7580), 60-68.
- ✓ Li, L., Tilman, D., Lambers, H., Zhang, F. S. (2014). Plant diversity and overyielding: insights from belowground facilitation of intercropping in agriculture. *New phytologist*, 203(1), 63-69.
- ✓ Liang, C., Amelung, W., Lehmann, J., Kästner, M. (2019). Quantitative assessment of microbial necromass contribution to soil organic matter. *Global change biology*, 25(11), 3578-3590.
- ✓ Liang, C., Schimel, J. P., Jastrow, J. D. (2017). The importance of anabolism in microbial control over soil carbon storage. *Nature microbiology*, 2(8), 1-6.
- ✓ Liu, Y., von Wirén, N. (2017). Ammonium as a signal for physiological and morphological responses in plants. *Journal of Experimental Botany*, 68(10), 2581-2592.
- ✓ Loreau, M., Hector, A. (2001). Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature*, 412(6842), 72-76.
- ✓ Lorenz, M., Thiele-Bruhn, S. (2019). Tree species affect soil organic matter stocks and stoichiometry in interaction with soil microbiota. *Geoderma*, 353, 35-46.
- ✓ Lou, G., Warman, P. R. (1992). Labile ester sulphate in organic matter extracted from podzolic soils. *Biology and fertility of soils*, 14(4), 267-271.
- ✓ Lovell, S. T., Dupraz, C., Gold, M., Jose, S., Revord, R., Stanek, E., Wolz, K. J. (2018). Temperate agroforestry research: considering multifunctional woody polycultures and the design of long-term field trials. *Agroforestry Systems*, 92(5), 1397-1415.
- ✓ Lu, J., Muhmood, A., Czekala, W., Mazurkiewicz, J., Dach, J., Dong, R. (2019). Untargeted Metabolite Profiling for Screening Bioactive Compounds in Digestate of Manure under Anaerobic Digestion. *Water*, 11(11), 2420.
- ✓ Luce, M. S., Whalen, J. K., Ziadi, N., Zebarth, B. J. (2011). Nitrogen dynamics and indices to predict soil nitrogen supply in humid temperate soils. In *Advances in agronomy* (Vol. 112, pp. 55-102). Academic Press.
- ✓ Manzoni, S., Porporato, A. (2009). Soil carbon and nitrogen mineralization : theory and models across scales. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(7), 1355-1379.



- ✓ Manzoni, S., Taylor, P., Richter, A., Porporato, A., & Ågren, G. I. (2012). Environmental and stoichiometric controls on microbial carbon-use efficiency in soils. *New Phytologist*, 196(1), 79-91.
- ✓ Marschner, B., & Kalbitz, K. (2003). Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils. *Geoderma*, 113(3-4), 211-235.
- ✓ McGill, W. B., Cole, C. V. (1981). Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter. *Geoderma*, 26(4), 267-286.
- ✓ McLaren, R. G., Keer, J. I., Swift, R. S. (1985). Sulphur transformations in soils using sulphur-35 labelling. *Soil Biology and Biochemistry*, 17(1), 73-79.
- ✓ McLaughlin, A., Mineau, P. (1995). The impact of agricultural practices on biodiversity. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 55(3), 201-212.
- ✓ Merrien, A. (1996). Effect of sulphur fertilization on the yield and quality of winter rape. *Perspectives Agricoles (France)*.
- ✓ Möller, K., & Müller, T. (2012). Effects of anaerobic digestion on digestate nutrient availability and crop growth : a review. *Engineering in Life Sciences*, 12(3), 242-257.
- ✓ Montesinos-Navarro, A., Valiente-Banuet, A., Verdú, M. (2019). Mycorrhizal symbiosis increases the benefits of plant facilitative interactions. *Ecography*, 42(3), 447-455.
- ✓ Moorhead, D. L., Sinsabaugh, R. L. (2000). Simulated patterns of litter decay predict patterns of extracellular enzyme activities. *Applied Soil Ecology*, 14(1), 71-79.
- ✓ Moorhead, D. L., Sinsabaugh, R. L. (2006). A theoretical model of litter decay and microbial interaction. *Ecological Monographs*, 76(2), 151-174.
- ✓ Mooshammer, M., Wanek, W., Hämmerle, I., Fuchslueger, L., Hofhansl, F., Knoltsch, A., ... Keiblinger, K. M. (2014b). Adjustment of microbial nitrogen use efficiency to carbon: nitrogen imbalances regulates soil nitrogen cycling. *Nature communications*, 5, 3694.
- ✓ Mooshammer, M., Wanek, W., Zechmeister-Boltenstern, S., Richter, A. A. (2014a). Stoichiometric imbalances between terrestrial decomposer communities and their resources: mechanisms and implications of microbial adaptations to their resources. *Frontiers in microbiology*, 5, 22.
- ✓ Mulvaney, R. L., Khan, S. A., Ellsworth, T. R. (2009). Synthetic nitrogen fertilizers deplete soil nitrogen: a global dilemma for sustainable cereal production. *Journal of environmental quality*, 38(6), 2295-2314.
- ✓ Munier-Jolain, N. G., Salon, C. (2005). Are the carbon costs of seed production related to the quantitative and qualitative performance? An appraisal for legumes and other crops. *Plant, Cell & Environment*, 28(11), 1388-1395.
- ✓ Murphy, D. V., Stockdale, E. A., Poulton, P. R., Willison, T. W., Goulding, K. W. T. (2007). Seasonal dynamics of carbon and nitrogen pools and fluxes under continuous arable and ley-arable rotations in a temperate environment. *European journal of soil science*, 58(6), 1410-1424.
- ✓ Muscolo, A., Settineri, G., Papalia, T., Attinà, E., Basile, C., Panuccio, M. R. (2017). Anaerobic co-digestion of recalcitrant agricultural wastes: Characterizing of biochemical parameters of digestate and its impacts on soil ecosystem. *Science of the Total Environment*, 586, 746-752.
- ✓ Naeem, S., Wright, J. P. (2003). Disentangling biodiversity effects on ecosystem functioning: deriving solutions to a seemingly insurmountable problem. *Ecology letters*, 6(6), 567-579.
- ✓ Nair, P. K. R., Mohan Kumar, B., Nair, V. D. (2009). Agroforestry as a strategy for carbon sequestration. *Journal of plant nutrition and soil science*, 172(1), 10-23.
- ✓ Newcombe, D. A., Crowley, D. E. (1999). Bioremediation of atrazine-contaminated soil by repeated applications of atrazine-degrading bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51(6), 877-882.
- ✓ Nguyen, C. (2003). Rhizodeposition of organic C by plants: mechanisms and controls. *Agronomie*, 23 375–396.
- ✓ Niknahad-Gharmakher, H., Piutti, S., Machet, J. M., Benizri, E., Recous, S. (2012). Mineralization-immobilization of sulphur in a soil during decomposition of plant residues of varied chemical composition and S content. *Plant and soil*, 360(1-2), 391-404.
- ✓ Nkoa, R. (2014). Agricultural benefits and environmental risks of soil fertilization with anaerobic digestates: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34(2), 473-492.
- ✓ Oades, J. M. (1984). Soil organic matter and structural stability: mechanisms and implications for management. *Plant and soil*, 76(1-3), 319-337.
- ✓ Öerke, E. C. (2005). Crop losses to pest. *Journal of Agricultural Science*, 144, 31-43.
- ✓ Oerke, E. C., Dehne, H. W. (1997). Global crop production and the efficacy of crop protection-current situation and future trends. *European Journal of Plant Pathology*, 103(3), 203-215.
- ✓ Patzel, N., Sticher, H., Karlen, D. L. (2000). Soil fertility—phenomenon and concept. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 163(2), 129-142.
- ✓ Paul, E.A., Clark, F.E. (1996). Soil microbiology and biochemistry, second ed. Academic Press, San Diego.

- ✓ Pausch, J., Tian, J., Riederer, M., Kuzyakov, Y. (2013). Estimation of rhizodeposition at field scale: upscaling of a 14 C labeling study. *Plant and Soil*, 364(1-2), 273-285.
- ✓ Pérez-Montaño, F., Alías-Villegas, C., Bellogín, R. A., Del Cerro, P., Espuny, M. R., Jiménez-Guerrero, I., ... Cubo, T. (2014). Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: from microorganism capacities to crop production. *Microbiological research*, 169(5-6), 325-336.
- ✓ Personeni, E., Loiseau, P. (2004). How does the nature of living and dead roots affect the residence time of carbon in the root litter continuum?. *Plant and soil*, 267(1-2), 129-141.
- ✓ Pimentel, D. (1996). Green revolution agriculture and chemical hazards. *Science of the total environment*, 188, S86-S98.
- ✓ Pimentel, D., Pimentel, M. (1990). Comment: Adverse environmental consequences of the Green Revolution. *Population and Development Review*, 16, 329-332.
- ✓ Pinstруп-Andersen, P., Hazell, P. B. (1985). The impact of the Green Revolution and prospects for the future. *Food Reviews International*, 1(1), 1-25.
- ✓ Piutti, S., Marchand, A. L., Lagacherie, B., Martin-Laurent, F., Soulas, G. (2002a). Effect of cropping cycles and repeated herbicide applications on the degradation of diclofop-methyl, bentazone, diuron, isoproturon and pendimethalin in soil. *Pest Management Science*, 58(3), 303-312.
- ✓ Piutti, S., Hallet, S., Rousseaux, S., Philippot, L., Soulas, G., Martin-Laurent, F. (2002b). Accelerated mineralisation of atrazine in maize rhizosphere soil. *Biology and fertility of soils*, 36(6), 434-441.
- ✓ Piutti, S., Schneller, C., Guimont, H. P., Amiaud, B. (2010). Une approche expérimentale sur l'allongement des rotations et l'implantation de bandes enherbées en grandes cultures pour maximiser les services rendus par la biodiversité végétale et microbienne. *Innovations Agronomiques (8)*, 149-158.
- ✓ Piutti, S., Romillac, N., Chanseume, A., Slezack-Deschaumes, S., Manneville, V., Amiaud, B. (2015). Enjeux et contributions des prairies temporaires pour améliorer la fertilité des sols. *Fourrages*, 223, 179-187.
- ✓ Piutti, S., Slezack-Deschaumes, S., Niknahad-Gharmakher, H., Vong, P. C., Recous, S., Benizri, E. (2015). Relationships between the density and activity of microbial communities possessing arylsulfatase activity and soil sulfate dynamics during the decomposition of plant residues in soil. *European journal of soil biology*, 70, 88-96.
- ✓ Plante, A. F., Conant, R. T., Stewart, C. E., Paustian, K., Six, J. (2006). Impact of soil texture on the distribution of soil organic matter in physical and chemical fractions. *Soil Science Society of America Journal*, 70(1), 287-296.
- ✓ Popp, J., Pető, K., Nagy, J. (2013). Pesticide productivity and food security. A review. *Agronomy for sustainable development*, 33(1), 243-255.
- ✓ Poux, X., Aubert, P.-M. (2018). Une Europe agroécologique en 2050 : une agriculture multifonctionnelle pour une alimentation saine. Enseignements d'une modélisation du système alimentaire européen, Iddri-ASCA, Study N°09/18, Paris, France, 78 p
- ✓ Qiao, Y., Wang, J., Liang, G., Du, Z., Zhou, J., Zhu, C., ... Xia, J. (2019). Global variation of soil microbial carbon-use efficiency in relation to growth temperature and substrate supply. *Scientific reports*, 9(1), 1-8.
- ✓ Rasse, D. P., Rumpel, C., Dignac, M. F. (2005). Is soil carbon mostly root carbon? Mechanisms for a specific stabilisation. *Plant and soil*, 269(1-2), 341-356.
- ✓ Reiss, J., Bridle, J. R., Montoya, J. M., Woodward, G. (2009). Emerging horizons in biodiversity and ecosystem functioning research. *Trends in ecology & evolution*, 24(9), 505-514.
- ✓ Robertson, G. P., Freckman, D. W. (1995). The spatial distribution of nematode trophic groups across a cultivated ecosystem. *Ecology*, 76(5), 1425-1432.
- ✓ Rodríguez-Echeverría, S., Lozano, Y. M., Bardgett, R. D. (2016). Influence of soil microbiota in nurse plant systems. *Functional Ecology*, 30(1), 30-40.
- ✓ Romillac, Nicolas (2015). Effets de l'introduction du pois dans une succession de cultures sur certaines communautés végétales et bactériennes et leurs fonctions écosystémiques associées. Thèse de doctorat. Université de Lorraine.
- ✓ Ros, G. H., Hoffland, E., Van Kessel, C., Temminghoff, E. J. (2009). Extractable and dissolved soil organic nitrogen—A quantitative assessment. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(6), 1029-1039.
- ✓ Ros, G. H., Temminghoff, E. J. M., Hoffland, E. (2011). Nitrogen mineralization: a review and meta-analysis of the predictive value of soil tests. *European Journal of Soil Science*, 62(1), 162-173.
- ✓ Rroupsard, O., Audebert, A., Ndour, A. P., Clermont-Dauphin, C., Agbohessou, Y., Sanou, J., ..., Le Maire, G. (2020). How far does the tree affect the crop in agroforestry? New spatial analysis methods in a *Faidherbia* parkland. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 296, 106928.
- ✓ Rouzaud, G., Rabot, S., Ratcliffe, B., & Duncan, A. J. (2003). Influence of plant and bacterial myrosinase activity on the metabolic fate of glucosinolates in gnotobiotic rats. *British journal of Nutrition*, 90(2), 395-404.
- ✓ Scherer, H. W. (2001). Sulphur in crop production. *European Journal of agronomy*, 14(2), 81-111.

- ✓ Scherer, H. W., Welp, G., Förster, S. (2012). Sulfur fractions in particle-size separates as influenced by long-term application of mineral and organic fertilizers. *Plant, Soil and Environment*, 58(5), 242-248.
- ✓ Schiavon, M. (1988). Studies of the leaching of atrazine, of its chlorinated derivatives, and of hydroxyatrazine from soil using <sup>14</sup>C ring-labeled compounds under outdoor conditions. *Ecotoxicology and environmental safety*, 15(1), 46-54.
- ✓ Schimel, J. P., Weintraub, M. N. (2003). The implications of exoenzyme activity on microbial carbon and nitrogen limitation in soil: a theoretical model. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(4), 549-563.
- ✓ Schindler, S. C., Mitchell, M. J., Scott, T. J., Fuller, R. D., & Driscoll, C. T. (1986). Incorporation of <sup>35</sup>S-sulfate into Inorganic and Organic Constituents of Two Forest Soils 1. *Soil Science Society of America Journal*, 50(2), 457-462.
- ✓ Schmitz, C., van Meijl, H., Kyle, P., Nelson, G. C., Fujimori, S., Gurgel, A., ... Sands, R. (2014). Land-use change trajectories up to 2050: insights from a global agro-economic model comparison. *Agricultural economics*, 45(1), 69-84.
- ✓ Schomberg, H. H., Wietholter, S., Griffin, T. S., Reeves, D. W., Cabrera, M. L., Fisher, D. S., ... Kitchen, N. R. (2009). Assessing indices for predicting potential nitrogen mineralization in soils under different management systems. *Soil Science Society of America Journal*, 73(5), 1575-1586.
- ✓ Schott, C., Mignolet, C., Meynard, J. M. (2010). Les oléoprotéagineux dans les systèmes de culture: évolution des assolements et des successions culturales depuis les années 1970 dans le bassin de la Seine. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 17(5), 276-291.
- ✓ Sharifi, M., Zebarth, B. J., Burton, D. L., Grant, C. A., Cooper, J. M. (2007). Evaluation of some indices of potentially mineralizable nitrogen in soil. *Soil Science Society of America Journal*, 71(4), 1233-1239.
- ✓ Shouse, P. J., Russell, W. B., Burden, D. S., Selim, H. M., Sisson, J. B., Van Genuchten, M. T. (1995). Spatial variability of soil water retention functions in a silt loam soil. *Soil Science*, 159(1), 1-12.
- ✓ Simon-Sylvestre, G. (1969). Premiers résultats d'une enquête sur le soufre total des sols cultivés Français. In *Annales agronomiques*.
- ✓ Simon-Sylvestre, G. (1972). Effect of different sulphur fertilisers on the annual cycles of sulphur and nitrogen in soils. *Comptes Rendus de l'Académie d'Agriculture de France*, 58, 1502-1512.
- ✓ Sinsabaugh, R. L., Follstad Shah, J. J. (2012). Ecoenzymatic stoichiometry and ecological theory. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 43, 313-343.
- ✓ Sinsabaugh, R. L. (1994). Enzymatic analysis of microbial pattern and process. *Biology and Fertility of Soils*, 17(1), 69-74.
- ✓ Sinsabaugh, R. L., Moorhead, D. L. (1994). Resource allocation to extracellular enzyme production: a model for nitrogen and phosphorus control of litter decomposition. *Soil biology and biochemistry*, 26(10), 1305-1311.
- ✓ Sinsabaugh, R. L., Lauber, C. L., Weintraub, M. N., Ahmed, B., Allison, S. D., Crenshaw, C., ... Gartner, T. B. (2008). Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. *Ecology letters*, 11(11), 1252-1264.
- ✓ Sinsabaugh, R. L., Hill, B. H., Shah, J. J. F. (2009). Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment. *Nature*, 462(7274), 795-798.
- ✓ Sinsabaugh, R. L., Manzoni, S., Moorhead, D. L., Richter, A. (2013). Carbon use efficiency of microbial communities: stoichiometry, methodology and modelling. *Ecology letters*, 16(7), 930-939.
- ✓ Sinsabaugh, R. L., Turner, B. L., Talbot, J. M., Waring, B. G., Powers, J. S., Kuske, C. R., ... & Follstad Shah, J. J. (2016). Stoichiometry of microbial carbon use efficiency in soils. *Ecological Monographs*, 86(2), 172-189.
- ✓ Sinsabaugh, R. L., Moorhead, D. L., Xu, X., & Litvak, M. E. (2017). Plant, microbial and ecosystem carbon use efficiencies interact to stabilize microbial growth as a fraction of gross primary production. *New Phytologist*, 214(4), 1518-1526.
- ✓ Six, J., Conant, R. T., Paul, E. A., Paustian, K. (2002). Stabilization mechanisms of soil organic matter: implications for C-saturation of soils. *Plant and soil*, 241(2), 155-176.
- ✓ Slezacek-Deschaumes S., Clivot H., Pernot J., Genestier J., Braun V., Piutti S. (2018). Un traitement de semences fongicide à effets biostimulants. *Phytoma*, 718, 35-38.
- ✓ Smit, E., Wolters, A. C., Lee, H., Trevors, J. T., Van Elsas, J. D. (1996). Interactions between a genetically marked *Pseudomonas fluorescens* strain and bacteriophage ΦR2f in soil: Effects of nutrients, alginate encapsulation, and the wheat rhizosphere. *Microbial ecology*, 31(2), 125-140.
- ✓ Smith, J., Pearce, B. D., Wolfe, M. S. (2012). A European perspective for developing modern multifunctional agroforestry systems for sustainable intensification. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 27(4), 323-332.
- ✓ Sohi, S. P., Mahieu, N., Powlson, D. S., Madari, B., Smittenberg, R. H., Gaunt, J. L. (2005). Investigating the chemical characteristics of soil organic matter fractions suitable for modeling. *Soil Science Society of America Journal*, 69(4), 1248-1255.
- ✓ Solomon, D., Lehmann, J., Martínez, C. E. (2003). Sulfur K-edge XANES spectroscopy as a tool for understanding sulfur dynamics in soil organic matter. *Soil Science Society of America Journal*, 67(6), 1721-1731.

- ✓ Spohn, M., Chodak, M. (2015). Microbial respiration per unit biomass increases with carbon-to-nutrient ratios in forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, *81*, 128-133.
- ✓ Spohn, M., Pötsch, E. M., Eichorst, S. A., Wobken, D., Wanek, W., Richter, A. (2016). Soil microbial carbon use efficiency and biomass turnover in a long-term fertilization experiment in a temperate grassland. *Soil Biology and Biochemistry*, *97*, 168-175.
- ✓ Steinauer, K., Fischer, F. M., Roscher, C., Scheu, S., Eisenhauer, N. (2017). Spatial plant resource acquisition traits explain plant community effects on soil microbial properties. *Pedobiologia*, *65*, 50-57.
- ✓ Sterner, R. W., Elser, J. J. (2002). Ecological stoichiometry: the biology of elements from molecules to the biosphere. Princeton university press.
- ✓ Stockdale, E. A., Shepherd, M. A., Fortune, S., Cuttle, S. P. (2002). Soil fertility in organic farming systems—fundamentally different?. *Soil use and management*, *18*, 301-308.
- ✓ Strickland, M. S., Rousk, J. (2010). Considering fungal: bacterial dominance in soils—methods, controls, and ecosystem implications. *Soil Biology and Biochemistry*, *42*(9), 1385-1395.
- ✓ Struthers, J. K., Jayachandran, K., Moorman, T. B. (1998). Biodegradation of atrazine by *Agrobacterium radiobacter* J14a and use of this strain in bioremediation of contaminated soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, *64*(9), 3368-3375.
- ✓ Studer, R. (1984). Le soufre, élément fertilisant secondaire. *Techniques Agricoles*, *1270*, 1-6.
- ✓ Swinnen, J., Van Veen, J. A., Merckx, R. J. S. B. (1994a). <sup>14</sup>C pulse-labelling of field-grown spring wheat: an evaluation of its use in rhizosphere carbon budget estimations. *Soil Biology and Biochemistry*, *26*(2), 161-170.
- ✓ Swinnen, J., Van Veen, J. A., Merckx, R. (1994b). Rhizosphere carbon fluxes in field-grown spring wheat: model calculations based on <sup>14</sup>C partitioning after pulse-labelling. *Soil Biology and Biochemistry*, *26*(2), 171-182.
- ✓ Tabatabai, M. A. (1984). Importance of sulphur in crop production. *Biogeochemistry*, *1*(1), 45-62.
- ✓ Tabatabai, M. A., Bremner, J. M. (1970). Factors affecting soil arylsulfatase activity. *Soil Science Society of America Journal*, *34*(3), 427-429.
- ✓ Tallec, T., Diquelou, S., Fauveau, C., Bataillé, M. P., Ourry, A. (2008). Effects of nitrogen and sulphur gradients on plant competition, N and S use efficiencies and species abundance in a grassland plant mixture. *Plant and soil*, *313*(1-2), 267-282.
- ✓ Tempest, D. W., Neijssel, O. M. (1992). Physiological and energetic aspects of bacterial metabolite overproduction. *FEMS Microbiology Letters*, *100*(1-3), 169-176.
- ✓ Therond, O., Duru, M., Roger-Estrade, J., Richard, G. (2017). A new analytical framework of farming system and agriculture model diversities. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, *37*(3), 21.
- ✓ Thiele-Bruhn, S., Schlöter, M., Wilke, B. M., Beaudette, L. A., Martin-Laurent, F., Cheviron, N., ... Römbke, J. (2019). Identification of new microbial functional standards for soil quality assessment. *SOIL Discussions*, 1-34.
- ✓ Thomas, A., Priault, P., Piutti, S., Dalle, E., Marron, N. 2020. Growth dynamics of fast-growing tree species in mixed forestry and agroforestry plantations. *Forest Ecology and Management*, sous presse.
- ✓ Tilman, D. (1990). Constraints and tradeoffs: toward a predictive theory of competition and succession. *Oikos*, 3-15.
- ✓ Tilman, D., Knops, J., Wedin, D., Reich, P., Ritchie, M., Siemann, E. (1997). The influence of functional diversity and composition on ecosystem processes. *Science*, *277*(5330), 1300-1302.
- ✓ Tilman, D. (2001). Functional diversity. *Encyclopedia of biodiversity*, *3*(1), 109-120.
- ✓ Tilman, D., Fargione, J., Wolff, B., D'Antonio, C., Dobson, A., Howarth, R., ... Swackhamer, D. (2001). Forecasting agriculturally driven global environmental change. *Science*, *292*(5515), 281-284.
- ✓ Tilman, D., Cassman, K. G., Matson, P. A., Naylor, R., & Polasky, S. (2002). Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, *418*(6898), 671-677.
- ✓ Tipping, E., Somerville, C. J., Luster, J. (2016). The C: N: P: S stoichiometry of soil organic matter. *Biogeochemistry*, *130*(1-2), 117-131.
- ✓ Udawatta, R., Rankoth, L., Jose, S. (2019). Agroforestry and biodiversity. *Sustainability*, *11*(10), 2879.
- ✓ Usman, M. (2008). Effect of incorporation of wheat residues in soil under sulfur limiting conditions on the size and activity of bacterial community involved in the mineralization of organic sulfur. *Mémoire de Master 2*.
- ✓ van Eekeren, N., Bommelé, L., Bloem, J., Schouten, T., Rutgers, M., de Goede, R., ... Brussaard, L. (2008). Soil biological quality after 36 years of ley-arable cropping, permanent grassland and permanent arable cropping. *applied soil ecology*, *40*(3), 432-446.
- ✓ van Elsas, J. D., Trevors, J. T., & Starodub, M. E. (1988). Bacterial conjugation between pseudomonads in the rhizosphere of wheat. *FEMS Microbiology Ecology*, *4*(5), 299-306.
- ✓ Vančura, V., Přikryl, Z., Kalachova, L., Wurst, M. (1977). Some quantitative aspects of root exudation. *Ecological Bulletins*, 381-386.



- ✓ Varin, S., Cliquet, J. B., Personeni, E., Avice, J. C., Lemauiel-Lavenant, S. (2010). How does sulphur availability modify N acquisition of white clover (*Trifolium repens* L.)?. *Journal of Experimental Botany*, 61(1), 225-234.
- ✓ Vega-Mas, I., Cukier, C., Coleto, I., González-Murua, C., Limami, A. M., González-Moro, M. B., Marino, D. (2019). Isotopic labelling reveals the efficient adaptation of wheat root TCA cycle flux modes to match carbon demand under ammonium nutrition. *Scientific reports*, 9(1), 1-14.
- ✓ Verchot, L. V., Van Noordwijk, M., Kandji, S., Tomich, T., Ong, C., Albrecht, A., ... Palm, C. (2007). Climate change : linking adaptation and mitigation through agroforestry. Mitigation and adaptation strategies for global change, 12(5), 901-918.
- ✓ Violle, C., Navas, M. L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., Garnier, E. (2007). Let the concept of trait be functional!. *Oikos*, 116(5), 882-892.
- ✓ von Lützow, M., Kögel-Knabner, I., Ekschmitt, K., Flessa, H., Guggenberger, G., Matzner, E., Marschner, B. (2007). SOM fractionation methods: relevance to functional pools and to stabilization mechanisms. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(9), 2183-2207.
- ✓ Vong, P. C., Dedourge, O., Lasserre-Joulin, F., Guckert, A. (2003). Immobilized-S, microbial biomass-S and soil arylsulfatase activity in the rhizosphere soil of rape and barley as affected by labile substrate C and N additions. *Soil biology and biochemistry*, 35(12), 1651-1661.
- ✓ Vong, P. C., Dedourge, O., Guckert, A. (2004). Immobilization and mobilization of labelled sulphur in relation to soil arylsulphatase activity in rhizosphere soil of field-grown rape, barley and fallow. *Plant and soil*, 258(1), 227-239.
- ✓ Vong, P. C., Piutti, S., Benizri, É., Slezack-Deschaumes, S., Robin, C., Guckert, A. (2007). Water-soluble carbon in roots of rape and barley: impacts on labile soil organic carbon, arylsulfatase activity and sulfur mineralization.
- ✓ Wade, J., Horwath, W. R., Burger, M. B. (2016). Integrating soil biological and chemical indices to predict net nitrogen mineralization across California agricultural systems. *Soil Science Society of America Journal*, 80(6), 1675-1687.
- ✓ Walsh, J. J., Jones, D. L., Edwards-Jones, G., Williams, A. P. (2012a). Replacing inorganic fertilizer with anaerobic digestate may maintain agricultural productivity at less environmental cost. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 175(6), 840-845.
- ✓ Walsh, J. J., Rousk, J., Edwards-Jones, G., Jones, D. L., Williams, A. P. (2012b). Fungal and bacterial growth following the application of slurry and anaerobic digestate of livestock manure to temperate pasture soils. *Biology and Fertility of Soils*, 48(8), 889-897.
- ✓ Wang, J., Xiong, Z., Kuzyakov, Y. (2016). Biochar stability in soil: meta-analysis of decomposition and priming effects. *Gcb Bioenergy*, 8(3), 512-523.
- ✓ Wang, W., Smith, C. J., Chalk, P. M., Chen, D. (2001). Evaluating chemical and physical indices of nitrogen mineralization capacity with an unequivocal reference. *Soil Science Society of America Journal*, 65(2), 368-376.
- ✓ Wardle, D. A., Bardgett, R. D., Klironomos, J. N., Setälä, H., Van Der Putten, W. H., Wall, D. H. (2004). Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, 304(5677), 1629-1633.
- ✓ Wedin, D. A., Tilman, D. (1990). Species effects on nitrogen cycling: a test with perennial grasses. *Oecologia*, 84(4), 433-441.
- ✓ Wedin, D. A., Tilman, D. (1996). Influence of nitrogen loading and species composition on the carbon balance of grasslands. *Science*, 274(5293), 1720-1723.
- ✓ Werth, M., Kuzyakov, Y. (2008). Root-derived carbon in soil respiration and microbial biomass determined by <sup>14</sup>C and <sup>13</sup>C. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(3), 625-637.
- ✓ Wolz, K. J., DeLucia, E. H. (2018). Alley cropping: Global patterns of species composition and function. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 252, 61-68.
- ✓ Wu, J., O'Donnell, A. G., Syers, J. K. (1993). Microbial growth and sulphur immobilization following the incorporation of plant residues into soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 25(11), 1567-1573.
- ✓ Wu, J., O'Donnell, A. G., Syers, J. K. (1995). Influences of glucose, nitrogen and plant residues on the immobilization of sulphate-S in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 27(11), 1363-1370.
- ✓ Xu, X., Thornton, P. E., Post, W. M. (2013). A global analysis of soil microbial biomass carbon, nitrogen and phosphorus in terrestrial ecosystems. *Global Ecology and Biogeography*, 22(6), 737-749.
- ✓ Yao, H., Jiao, X., Wu, F. (2006). Effects of continuous cucumber cropping and alternative rotations under protected cultivation on soil microbial community diversity. *Plant and Soil*, 284(1-2), 195-203.
- ✓ Yuan, Z. Y., Chen, H. Y. (2010). Fine root biomass, production, turnover rates, and nutrient contents in boreal forest ecosystems in relation to species, climate, fertility, and stand age: literature review and meta-analyses. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 29(4), 204-221.

- ✓ Zechmeister-Boltenstern, S., Keiblinger, K. M., Mooshammer, M., Peñuelas, J., Richter, A., Sardans, J., Wanek, W. (2015). The application of ecological stoichiometry to plant–microbial–soil organic matter transformations. *Ecological Monographs*, 85(2), 133-155.
- ✓ Zhang, D., Hui, D., Luo, Y., Zhou, G. (2008). Rates of litter decomposition in terrestrial ecosystems: global patterns and controlling factors. *Journal of Plant Ecology*, 1(2), 85-93.
- ✓ Zhang X., Dong W., Dai X., Schaeffer S., Yang F., Radosevich M., Xu L., Liu X., Sun X. (2015) Responses of absolute and specific soil enzyme activities to long term additions of organic and mineral fertilizer. *Science of the Total Environment*, 536, 59–67.
- ✓ Zhao, F. J., Wu, J., & McGrath, S. P. (1996). Soil organic sulphur and its turnover. In *Humic substances in terrestrial ecosystems* (pp. 467-506). Elsevier Science BV.
- ✓ Zhao, F. J., Hawkesford, M. J., McGrath, S. P. (1999). Sulphur assimilation and effects on yield and quality of wheat. *Journal of cereal science*, 30(1), 1-17.
- ✓ Zhao, F. J., Lehmann, J., Solomon, D., Fox, M. A., McGrath, S. P. (2006). Sulphur speciation and turnover in soils: evidence from sulphur K-edge XANES spectroscopy and isotope dilution studies. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(5), 1000-1007.
- ✓ Zhu, X., Liu, W., Chen, J., Bruijnzeel, L. A., Mao, Z., Yang, X., ... Nair, V. D. (2020). Reductions in water, soil and nutrient losses and pesticide pollution in agroforestry practices: a review of evidence and processes. *Plant and Soil*, 453(1), 45-86.
- ✓ Zuber S.M., Villamil M.B. (2016) Meta-analysis approach to assess effect of tillage on microbial biomass and enzyme activities. *Soil Biology & Biochemistry*, 97, 176-187.



