



Régulations biotiques et abiotiques de la décomposition des matières organiques des sols

Sabrina Juarez

► To cite this version:

Sabrina Juarez. Régulations biotiques et abiotiques de la décomposition des matières organiques des sols. Sciences agricoles. AgroParisTech, 2013. Français. NNT : 2013AGPT0031 . pastel-01049725

HAL Id: pastel-01049725

<https://pastel.hal.science/pastel-01049725>

Submitted on 25 Jul 2014

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

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



Doctorat ParisTech

T H È S E



pour obtenir le grade de docteur délivré par

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

Spécialité : Sciences agronomiques et de l'environnement

présentée et soutenue publiquement par

Sabrina JUAREZ

le 29 mars 2013

**Régulations biotiques et abiotiques de la décomposition
des matières organiques des sols**

Jury

M. Stefaan DE NEVE, Professeur, Universiteit Gent

M. Lionel RANJARD, Directeur de Recherche, UMR Agroécologie, INRA Dijon

M. Jean MARTINS, Chargé de Recherche, Laboratoire LTRE, CNRS

Mme Sylvie RECOUS, Directrice de Recherche, UMR FARE, INRA Reims

Mme. Claire CHENU, Professeure, UMR BioEMCo, AgroParisTech

M. Naoise NUNAN, Chargé de Recherche, UMR BioEMCo, CNRS

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Directrice de thèse

Co-directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Le temps des remerciements est maintenant venu, signifiant ainsi la fin d'une époque, l'aboutissement de ces, longues diraient certains, mais tellement enrichissantes années d'études. C'est donc non sans émotion que ces quelques paragraphes ont été écrits pour remercier tout ceux qui de près ou de loin ont participé à la réussite de cette thèse.

Je tiens tout d'abord à remercier l'ensemble des membres du jury pour avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse. Merci donc à mes rapporteurs Stefaan DE NEVE et Lionel RANJARD, pour leur lecture attentive de mon manuscrit, et merci à mes examinateurs, Sylvie RECOUS et Jean MARTINS pour leurs commentaires pertinents. Je remercie également mon financeur la région Ile-de-France via le DIM Astréa, le projet ANR MEPSOM et mon Ecole Doctorale, ABIES.

Je remercie chaleureusement mes directeurs de thèse Claire CHENU et Naoise NUNAN. Merci à vous pour m'avoir fait confiance, et m'avoir guidé pendant cette aventure ! Vous êtes des encadrants de thèse exceptionnels et c'est pour moi une grande fierté de compter parmi vos doctorants. Grâce à vous j'ai également pu découvrir un laboratoire à l'autre bout du monde et je crois que j'y ai pris goût ! Naoise, ta disponibilité, ta patience, ton soutien dans les moments difficiles et bien sur nos moments de franches rigolades ont permis le bon déroulement de ma thèse. Toujours là pour répondre à mes questions et pour m'aider dans la formation sur le métier de chercheur, je t'adresse un grand merci ! Claire, travailler à tes côtés a été un grand honneur. Merci pour m'avoir permis d'encadrer et d'enseigner, j'espère un jour pouvoir passionner les étudiants comme tu le fais.

Merci bien évidemment à tous les membres du laboratoire BioEMCo, et en particulier aux Equipes MOS et Transferts pour cette formidable ambiance de travail, et ces bons moments passés au coin café : le BOB devenu FB2 !

Je remercie Valérie POUTEAU (devenue rapidement Valou !) pour m'avoir accueillie à bras ouverts dans son bureau, m'avoir fait découvrir les joies de la microbiologie (j'avoue il me reste à m'améliorer pour couler les boîtes !) et pour m'avoir soutenue dans les moments difficiles. Merci à Daniel BILLIOU (ou Danou) pour m'avoir fait retracer l'histoire du labo

et partager sa passion pour l'aviation virtuelle. Merci à Gérard BARDOUX (et son téléphone !) pour ses conseils pour l'utilisation du μ gaz, à Cyril GIRARDIN qui a toujours eu un petit mot d'encouragement durant cette dernière ligne droite, à Audrey NIBOYET qui a trouvé un super slogan pour 2013, et aussi à Nicolas PECHOT et sa folie cruciverbistique à présent absente au labo !

Bien sûr cette thèse aurait été bien moins animée sans Céline LETT (ah Célinette !), merci à toi pour tes éclats de rire et ta bonne humeur ! Merci également à Patricia RICHARD toujours à l'écoute. Mais aussi merci à Cornelia RUMPEL, Thierry BARRIAC (et le CCR), Philippe BIRON, Kadmiel MASEYK, Andréa RIGAUD, Abbad CHABBI et Marie-France DIGNAC.

Sébastien SALVADOR et Claudy JOLIVET, c'est à vos côtés que j'ai découvert et aimé la science du sol, alors un grand merci ! Je tiens également à remercier John CRAWFORD et Tim BURIKYN pour leur accueil au sein de l'Université de Sydney. Quelle chance ai je eu de voir en vrai cette super machine de micro-tomographe !

Un grand merci également à toute l'équipe d'EGC. En particulier merci à Jean Noel Rampon pour l'utilisation du TOC, à Christophe Labat pour les presses de Richards et à Joël Michelin pour son accompagnement sur le terrain. Merci aussi à Pierre BARRE et Lauric CECILLION pour leur aide sur l'utilisation du MIRS et l'analyse des données avec R ! Je remercie également Michel BERTRAND et l'unité expérimentale grandes cultures pour l'accès qu'il m'a été donné à l'essai de La Cage. Et puis il y a Jean-Pierre, sans qui mes nombreux passages à l'INRA de Versailles n'auraient pas été les mêmes. Merci à toi pour ton accueil chaleureux et ton aide sur le terrain.

J'ai à présent une pensée pour tous les étudiants, stagiaires, thésards et post-docs que j'ai eu la chance de croiser : Christophe et ses biochars, Phuong, Romain, Suzanne (je vais tenter de maîtriser Prezi), Aurore (à Bari « medicamento »), Fernando (avec qui j'ai découvert les bippers à pizzas !), Nadia, Karen, Haryun, Rémi (je me souviens t'entendre dire que la thèse très peu pour toi et te voilà embarqué dans cette grande aventure !!!), Lorena, Marie, Naid, Nazia et Seda mes premières colloc' de bureau. Mais aussi Remigio et Rodrigo mes compagnons de bureau hispanophones, grâce à vous mon niveau d'espagnol a bien

progressé même si certains mots ne sont pas des plus utiles et utilisables !!! Et puis les autres chiliens, Marcello, Marcella et Gabriella.

Et merci aux anciens thésards (dont je ferai très bientôt partie) et post-docs : Marie, Elsa, Mercedes, Cécile, Christophe, Muhammad, bien évidemment Léo (et tous ses bons conseils) et bien sûr les inséparables Mathieu et Thomas (plus connus sont les noms de Kiki et Zouzou).

Je tiens aussi à remercier les étudiantes que j'ai eu le plaisir d'encadrer, Emila et Anne-Claire. Je vous souhaite une grande réussite.

Je remercie ma famille qui m'a soutenue et cela même si elle n'a pas vraiment compris dans quoi je m'embarquais ! Merci à mes amis qui ont su me faire déconnecter de temps à autre.

Je finirai par un grand merci à toi David (ou Doudou pour les nombreux intimes) pour m'avoir épaulée, réconfortée et bien évidemment SUPPORTÉE pendant ces trois années. Je te dédie ce travail.

RÉSUMÉ

Les sols constituent le principal réservoir de carbone, avec près de deux fois plus de carbone que le pool atmosphérique. Afin de pouvoir prédire et anticiper le devenir du carbone dans le contexte actuel de changement climatique et de changement d'usage des terres, il apparaît nécessaire de mieux comprendre les processus qui régulent la décomposition des matières organiques dans les sols. Cette thèse se propose donc d'étudier deux types de régulateurs de la dynamique du carbone du sol : les propriétés de l'habitat microbien et celles des communautés microbiennes. En effet, puisque directement affectées par les changements climatiques d'une part, et les changements d'usage des terres et de pratiques culturales d'autre part, l'habitat microbien et les communautés microbiennes apparaissent comme des régulateurs clés de la dynamique du carbone du sol.

Des dispositifs expérimentaux permettant de faire varier les propriétés de l'habitat microbien et celles des communautés microbiennes de façon indépendante ou simultanée ont été mis en place. Dans un premier temps, des microcosmes dont la structure du sol a été manipulée afin d'obtenir des gradients de déstructuration, ont été incubés. Dans un second temps ce sont des microcosmes mettant en jeu des gradients de diversité microbienne qui ont été incubés. Enfin, une incubation utilisant les différences naturelles de propriétés de l'habitat microbien et de communautés microbiennes a été mise en place pour tenter de hiérarchiser ces régulateurs de la décomposition des matières organiques du sol.

Les résultats obtenus ont mis en évidence que l'activité microbienne de décomposition du carbone organique du sol semble plus contrôlée par les conditions environnementales (comme le pH, la texture et l'approvisionnement en substrat) que par la structure des communautés microbiennes ou leurs capacités métaboliques. En plus de cela, la fonction de minéralisation ne semble être affectée que dans le cas d'une très grande érosion de la biodiversité suggérant la présence d'un effet seuil, et que l'importance de la redondance fonctionnelle n'est pas toujours aussi grande que ce que le suggère de nombreuses études. D'autre part, dans des conditions d'aération suffisante, les mécanismes qui réguleraient la dynamique du carbone organique des sols se passeraient à des échelles très fines.

Mots-clés:

Dynamique du carbone ; Minéralisation du carbone ; Structure du sol ; Habitat microbien ; Porosité ; Diversité microbienne ; Communautés microbiennes ; Incubation.

ABSTRACT

Soils represent the principal reservoir of carbon with two times as much carbon as is found in the atmospheric pool. In an effort to better predict and anticipate how soil carbon dynamics will be affected by environmental changes and by the evolution of cropping systems, it is necessary to better understand the processes that regulate soil organic matter decomposition. This study aims to investigate two regulatory mechanisms of the soil carbon dynamic: the properties of the microbial habitat and the ones of the microbial communities. Because they are directly affected by the climatic changes and by the rapid evolution of cropping systems these two mechanisms appear to have a key role in the regulation of soil carbon decomposition.

Experimental designs were setup allowing the variations, independent or simultaneous, of the properties of microbial habitat and the ones of the microbial communities. First, to assess the relative importance of soil structure, microcosms with different gradient of disaggregation were incubated. Then, to assess the relative importance of diversity erosion, microcosms with microbial diversity gradient were incubated. Finally, using contrasted soils varying in their habitats and their microbial communities properties, we aimed to hierarchize these two carbon decomposition regulatory mechanisms.

The obtained results indicate that microbial activity of soil organic carbon decomposition seems to be more controlled by environmental conditions (such as pH, texture and also substrate supply) than by the microbial community structure or metabolic profiles. Then we observed that organic carbon mineralisation was impacted only when the levels of diversity were very low suggesting the existence of a threshold, and that the functional redundancy is maybe not as great as numerous studies suggest. Moreover, our work showed that when conditions of aeration in the pore system are sufficient, mechanisms regulating the dynamic of soil organic carbon take place at fine spatial scales.

Keywords:

Carbon dynamic; Soil Organic Carbon mineralisation; Soil Structure; Microbial habitat; Porosity; Microbial diversity; Microbial communities; Incubation.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	3
RÉSUMÉ.....	7
ABSTRACT	8
TABLE DES MATIÈRES.....	11
TABLE DES FIGURES	15
TABLE DES TABLEAUX.....	19
ABRÉVIATIONS.....	20
INTRODUCTION GENERALE : LA PLACE DU SOL DANS LE CYCLE DU CARBONE.....	23
 CHAPITRE I.	
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	29
<i>1. Les matières organiques du sol.....</i>	<i>30</i>
1.1. Définition	30
1.2. Leurs fonctions.....	31
1.3. Leur décomposition	32
<i>2. La structure du sol.....</i>	<i>34</i>
2.1. Une seule définition possible ?	34
2.2. Rôle de la structure dans le fonctionnement du sol	34
2.3. Le sol, un système poral	35
2.4. Les techniques de visualisation de la structure du sol.....	37
2.5. Structure du sol et matière organique	38
<i>3. Les acteurs de la décomposition : les microorganismes du sol.....</i>	<i>40</i>
3.1. Les communautés microbiennes et leur activité	41
3.1.1. Influence de la température	42
3.1.2. Influence de la dynamique de l'eau et des gaz.....	42
3.1.3. Influence de la quantité et de la qualité de la matière organique.....	43
3.1.4. Influence de la texture du sol.....	44

3.1.5. Influence du pH.....	44
3.2. Abondance, diversité et fonction.....	44
3.3. Distribution spatiale au sein du réseau poral.....	48
4. Le contexte : le projet MEPSOM.....	51
5. Problématique, objectifs et démarche de la thèse.....	53
 AVANT-PROPOS AU CHAPITRE II	57
CHAPITRE II.	
CARACTERISATION MULTI-VARIABLES ET MULTI-ECHELLES D'UN SOL SOUS DIFFERENTS SYSTEMES DE CULTURE	
59	
RÉSUMÉ	60
1. Introduction.....	61
2. Matériels et méthodes.....	63
2.1. Présentation du site expérimental.....	63
2.2. Caractérisation du sol sous les trois systèmes de culture.....	65
2.2.1. Profils des teneurs en carbone et azote organiques, rapport C/N et biomasse microbienne.....	65
2.2.2. Densité apparente.....	66
2.2.3. Analyses des acides gras phospholipidiques (PLFA)	66
2.2.4. Incubation, mesures du CO ₂ et quantification de la minéralisation du carbone.....	67
2.3. Distribution de la matière organique dans des agrégats des différents systèmes de culture.....	68
2.3.1. Micro-tomographie à rayons X.....	68
2.3.2. Mesures du carbone organique total.....	69
2.3.3. Spectroscopie moyen infra-rouge par réflexion diffuse à transformée de Fourier.....	70
3. Résultats et Discussion	71
3.1. Caractérisation du sol sous les trois systèmes de culture.....	71
3.2. Distribution de la matière organique à l'échelle de l'agrégat	77
4. Conclusion.....	80
 AVANT-PROPOS AU CHAPITRE III.....	83
CHAPITRE III.	
LES EFFETS DE DIFFERENTES STRUCTURES DE SOL SUR LA DECOMPOSITION DU CARBONE ORGANIQUE NATIF ET APPORTE	
85	
RÉSUMÉ	86
ABSTRACT	87
1. Introduction.....	88
2. Materials and Methods.....	91
2.1. Soil sampling	91

2.2. Preparation of soil cores	91
2.3. Addition of two ¹³ C-labelled substrates (fructose and vanillin) and incubation.....	92
2.4. Measurements of CO ₂ concentration, δ ¹³ C and quantification of organic matter mineralisation	93
2.5. Microbial biomass and phospholipid fatty acids analysis (PLFA)	94
2.6. Soil water retention and pore size classes	95
2.7. X-ray micro-tomography	96
2.8. Image analysis	97
2.9. Statistical analyses.....	97
3. Results.....	99
3.1. Soil organic carbon mineralisation.....	99
3.2. Substrate spatial distribution and mineralisation	100
3.3. Microbial biomass and phospholipid fatty acids (PLFA) profiles	103
3.4. Soil water retention, porosity, connectivity and specific density of surface area.....	104
4. Discussion.....	108
4.1. Soil structure changes and mineralisation.....	109
4.2. Microbial biomass and microbial community structure	110
5. Conclusion	112
 AVANT-PROPOS AU CHAPITRE IV	 115
 CHAPITRE IV.	
 DES MODIFICATIONS DE DIVERSITE MICROBIENNE ET DE STRUCTURE DU SOL VONT-	
ELLES AFFECTER LA MINERALISATION DU CARBONE ORGANIQUE?	117
RÉSUMÉ	118
ABSTRACT	119
1. Introduction	120
Materials and Methods.....	122
1.1. Soil sampling	122
1.2. Soil core preparation, sterilisation and inoculation.....	122
1.3. Addition of two ¹³ C-labelled substrates (fructose and vanillin) and incubation.....	123
1.4. Measurements of CO ₂ concentration and δ ¹³ C	124
1.5. Quantification of labelled substrate and native organic carbon mineralisation	125
1.6. Phospholipid fatty acids (PLFA) analysis and microbial biomass	125
1.7. Statistical analysis.....	126
2. Results.....	128
2.1. Soil organic carbon mineralisation.....	128
2.2. Substrate mineralisation.....	131
2.3. Microbial biomass and phospholipid fatty acids (PLFA) profiles	135
3. Discussion.....	137
3.1. Microbial diversity effects	138
3.2. Physical structure and substrate amendment effects	139

4. Conclusion	140
AVANT-PROPOS AU CHAPITRE V	143
CHAPITRE V.	
HIERARCHISATION DE DEUX FACTEURS DE LA BIODEGRADATION DES MATIERES ORGANIQUES DU SOL : PROPRIETES DE L'HABITAT MICROBIEN VERSUS COMMUNAUTES MICROBIENNES	145
RÉSUMÉ	146
ABSTRACT	147
1. Introduction	148
2. Materials and methods.....	150
2.1. Soils and sampling	150
2.2. Soil water retention.....	152
2.3. Preparation of soil cores, sterilisation and inoculation.....	152
2.4. Incubation and measurements of CO ₂ concentration.....	153
2.5. Microbial community structure analysis (PLFA)	154
2.6. Microbial metabolic capacities (BIOLOG Ecoplates™).....	155
2.7. Mathematical model and statistical analyses.....	155
3. Results.....	157
3.1. Different habitats and initial microbial communities	157
3.2. Soil organic carbon mineralisation.....	158
3.3. Model parameters.....	161
3.4. Microbial community structure (PLFA profiles)	166
3.5. Microbial metabolic capacities (BIOLOG Ecoplates™)	167
4. Discussion.....	168
5. Conclusion	172
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	175
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	181
ANNEXES.....	204
VALORISATION DE CE TRAVAIL DE THÈSE	208

TABLE DES FIGURES

FIGURE 1: CYCLE DU CARBONE ET FLUX ASSOCIES EN GIGA TONNES DE CARBONE (GtC) (STOCKMANN ET AL., 2013).....	24
FIGURE I.1: LES MECANISMES DE PROTECTION DU CARBONE DU SOL (SIX ET AL., 2002).	33
FIGURE I.2: IMAGES DE LA STRUCTURE D'UN AGREGAT DE SOL OBTENUES PAR ANALYSE EN MICRO-TOMOGRAPHIE A RAYONS X, A UNE RESOLUTION DE 5 μ M (A) ET DE 2 μ M (B). LE RESEAU PORAL EST REPRESENTÉ EN ROUGE.....	36
FIGURE I.3: LIEN ENTRE LA DIVERSITE BACTERIENNE ET LA FONCTION DE RESPIRATION (BELL ET AL., 2005).....	46
FIGURE I.4: EFFET DES DILUTIONS SUR LA DIVERSITE BACTERIENNE (WERTZ ET AL., 2006).	47
FIGURE I.5: COLONIES BACTERIENNES DANS UNE STRUCTURE ARGILEUSE OBSERVEES EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A TRANSMISSION (LADD ET AL., 1993).....	49
FIGURE I.6: COLONIES BACTERIENNES AU SEIN DU RESEAU PORAL D'UN SOL DE SURFACE AMENDE AVEC DU GLUCOSE (A), ET APRES CONSOMMATION DU GLUCOSE (B) ET AU SEIN D'UN SOL DE PROFONDEUR (C) (NUNAN ET AL., 2003). LES COLONIES SONT COLOREES EN BLEU.	49
FIGURE I.7: LES REGULATIONS DE LA DECOMPOSITION DES MATIERES ORGANIQUES DES SOLS (D'APRES SCHIMEL AND SCHAEFFER, 2012).	54
FIGURE II.1: LE DISPOSITIF DE L'ESSAI DE LA CAGE SITUE A L'INRA DE VERSAILLES (FRANCE).	64
FIGURE II.2: BOCAL D'INCUBATION, DISPOSITIF DE MESURE DE LA CONCENTRATION EN CO ₂ ET SYSTEME DE RENOUVELLEMENT D'AIR.	68
FIGURE II.3: ANALYSE EN MICRO-TOMOGRAPHIE A RAYONS X ET RECONSTRUCTION TRIDIMENSIONNELLE D'UN AGREGAT DE SOL.	69
FIGURE II.4: PROFILS DES TENEURS EN CARBONE ET AZOTE ORGANIQUES, DU RAPPORT C/N ET DE LA BIOMASSE MICROBIENNE DES SOLS SOUS LES DIFFERENTS SYSTEMES DE CULTURE. EN BLEU LE SYSTEME CONVENTIONNEL, EN VERT LE SYSTEME BIOLOGIQUE ET EN ROUGE LE SYSTEME SCV. LES BARRES D'ERREUR CORRESPONDENT AUX ERREURS STANDARDS (N=3).....	73
FIGURE II.5: DENSITE APPARENTE SUR 0-10 CM DE PROFONDEUR DES DIFFERENTS SYSTEMES DE CULTURE. EN BLEU LE SYSTEME CONVENTIONNEL, EN VERT LE SYSTEME BIOLOGIQUE ET EN ROUGE LE SYSTEME SCV. LES BARRES D'ERREUR CORRESPONDENT AUX ERREURS STANDARDS (N=3).....	74
FIGURE II.6: ANALYSE EN COMPOSANTES PRINCIPALES (ACP) DES PROFILS DES ACIDES GRAS PHOSPHOLIPIDIQUES (PLFA) EXTRAITS DU SOL SOUS LES DIFFERENTS SYSTEMES DE CULTURE, ET LOADINGS DES ACIDES GRAS RESPONSABLES DE LA DIFFERENCIATION. EN BLEU LE SYSTEME CONVENTIONNEL, EN VERT LE SYSTEME BIOLOGIQUE ET EN ROUGE LE SYSTEME SCV.....	75
FIGURE II.7: MINERALISATION BASALE DU CARBONE DANS LES DIFFERENTS SYSTEMES DE CULTURE. EN BLEU LE SYSTEME CONVENTIONNEL, EN VERT LE SYSTEME BIOLOGIQUE ET EN ROUGE LE SYSTEME SCV. LES BARRES D'ERREUR CORRESPONDENT AUX ERREURS STANDARDS (N=3).....	76
FIGURE II.8: IMAGES OBTENUES APRES ANALYSE EN MICRO- TOMOGRAPHIE A RAYONS X D'AGREGATS PROVENANT DES DIFFERENTS SYSTEMES DE CULTURE A UNE RESOLUTION DE 5 μ M.	77

FIGURE II.9: RELATION ENTRE TENEUR EN CARBONE ORGANIQUE ET POROSITE TOTALE POUR LES AGREGATS PROVENANT DES DIFFERENTS SYSTEMES. EN BLEU LE SYSTEME CONVENTIONNEL SUR 6-10 CM, EN VERT LE SYSTEME BIOLOGIQUE SUR 6-10 CM, EN ROUGE LE SYSTEME SCV SUR 6-10 CM ET EN ORANGE LE SYSTEME SCV SUR 2-6 CM.	78
FIGURE II.10: ANALYSE EN COMPOSANTE PRINCIPALE (ACP) DE LA COMPOSITION DES MATIERES ORGANIQUES OBTENUE PAR SPECTROSCOPIE MOYEN INFRA-ROUGE (MIRS) DANS LES AGREGATS PROVENANT DES DIFFERENTS SYSTEMES. EN BLEU LE SYSTEME CONVENTIONNEL SUR 6-10 CM, EN VERT LE SYSTEME BIOLOGIQUE SUR 6-10 CM, EN ROUGE LE SYSTEME SCV SUR 6-10 CM ET EN ORANGE LE SYSTEME SCV SUR 2-6 CM.	79
FIGURE III.1: MATRIC POTENTIAL CURVES AND PORE VOLUME IN EACH PORE SIZE CLASS FOR UNDISTURBED (BLACK), SIEVED (GREY) AND DISPERSED (WHITE) TREATMENTS. THE MAXIMUM NECK DIAMETER OF WATER-FILLED PORES AT EACH MATRIC POTENTIAL WAS DETERMINED USING THE JURIN-LAPLACE EQUATION. THE GREY SURFACE IN THE FIGURE CORRESPONDS TO THE PART OF THE MOISTURE RETENTION CURVE NOT MEASURED DIRECTLY IN THE UNDISTURBED AND SIEVED SAMPLES. THE VERTICAL RED DOTTED LINE CORRESPONDS TO THE INCUBATION MATRIC POTENTIAL. LETTERS INDICATE SIGNIFICANT DIFFERENCES ACROSS STRUCTURE TREATMENTS IN EACH PORE SIZE CLASS ANALYSED ($P < 0.05$). ERRORS BARS REPRESENT STANDARD ERROR (N=3).	95
FIGURE III.2: CUMULATIVE AND DAILY SOIL ORGANIC CARBON MINERALISATION IN CONTROL TREATMENTS FOR UNDISTURBED (FULL LINES), SIEVED (DASHED LINES) AND DISPERSED (DOTTED LINES) TREATMENTS. VALUES ARE EXPRESSED AS MG C-CO ₂ .KG ⁻¹ DRY SOIL EQUIVALENT AND MG C-CO ₂ .KG ⁻¹ .DAY ⁻¹ DRY SOIL EQUIVALENT, RESPECTIVELY. ERROR BARS REPRESENT STANDARD ERROR (N=3).	100
FIGURE III.3: CUMULATIVE AND DAILY (A) FRUCTOSE AND (B) VANILLIN MINERALISATION FOR UNDISTURBED (FULL LINES), SIEVED (DASHED LINES) AND DISPERSED (DOTTED LINES) TREATMENTS. VALUES ARE EXPRESSED AS MG C-CO ₂ .KG ⁻¹ DRY SOIL EQUIVALENT AND MG C-CO ₂ .KG ⁻¹ .DAY ⁻¹ DRY SOIL EQUIVALENT, RESPECTIVELY. ERROR BARS REPRESENT STANDARD ERROR (N=3).	101
FIGURE III.4: FUNGAL TO BACTERIAL RATIO (A) AND PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS (PCA) OF PHOSPHOLIPID FATTY ACIDS (PLFA) PROFILES (B) AT THE END OF THE INCUBATION FOR THE DIFFERENT SOIL STRUCTURES (UNDISTURBED IN BLACK, SIEVED IN GREY AND DISPERSED IN WHITE) IN CONTROLS, AMENDED WITH FRUCTOSE AND AMENDED WITH VANILLIN SAMPLES. ASTERISKS INDICATE SIGNIFICANT DIFFERENCES ACROSS STRUCTURE TREATMENTS ($P < 0.05$). ERROR BARS REPRESENT STANDARD ERROR (N=3).	103
FIGURE III.5: AIR-FILLED, WATER-FILLED AND ACCESSIBLE TO MICROORGANISMS AND WATER-FILLED BUT NOT ACCESSIBLE TO MICROORGANISMS VOLUMES OF PORES AT THE INCUBATION MATRIC POTENTIAL. LETTERS INDICATE SIGNIFICANT DIFFERENCES AMONG STRUCTURE TREATMENTS IN EACH PORE SIZE CLASS ($P < 0.05$). ERRORS BARS REPRESENT STANDARD ERROR (N=3).	104
FIGURE III.6: EXAMPLES OF GREY SCALE AND BINARIZED IMAGES OF UNDISTURBED, SIEVED AND DISPERSED SOILS. THE SCANS WERE OBTAINED AT RESOLUTIONS (VOXEL SIZES) OF 3, 13 AND 32 µM. NO POROSITY WAS DETECTED IN THE IMAGES OF DISPERSED SAMPLES AT THE OPTICAL RESOLUTIONS OF 13 AND 32 µM.	106
FIGURE III.7: IMAGE BASED POROSITY, PORE CONNECTIVITY AND SURFACE AREA FOR THE UNDISTURBED (BLACK), SIEVED (GREY) AND DISPERSED (WHITE) TREATMENTS AT RESOLUTIONS OF 3 µM, 13 µM AND 32 µM. POROSITY AND PORE CONNECTIVITY VALUES ARE EXPRESSED IN % OF THE TOTAL VOLUME ANALYSED; SURFACE AREA VALUES ARE	

EXPRESSED IN $\mu\text{M}^2 \cdot \mu\text{M}^{-3}$ OF SOIL VOLUME. ASTERISKS INDICATE SIGNIFICANT DIFFERENCES ACROSS STRUCTURE TREATMENTS ($P < 0.05$). ERRORS BARS REPRESENT STANDARD ERROR ($N=5$).....	107
FIGURE IV.1: CUMULATIVE AND DAILY SOIL ORGANIC CARBON MINERALISATION IN CONTROL SAMPLES FOR THE DIFFERENT DIVERSITY (HIGH IN DASHED LINES, MEDIUM IN DOTTED LINES AND LOW IN FULL LINES) AND STRUCTURE TREATMENTS (UNDISTURBED ON THE LEFT, SIEVED ON THE MIDDLE AND DISPERSED ON THE RIGHT). VALUES ARE EXPRESSED AS $\text{MG C-CO}_2 \cdot \text{KG}^{-1}$ DRY SOIL EQUIVALENT AND $\text{MG C-CO}_2 \cdot \text{KG}^{-1} \cdot \text{DAY}^{-1}$ DRY SOIL EQUIVALENT, RESPECTIVELY. ERROR BARS REPRESENT STANDARD ERROR ($N=3$).....	129
FIGURE IV.2: CUMULATIVE SOIL ORGANIC CARBON MINERALISATION IN AMENDED SAMPLES WITH FRUCTOSE (TOP) OR VANILLIN (BOTTOM) FOR THE DIFFERENT DIVERSITY (HIGH IN DASHED LINES, MEDIUM IN DOTTED LINES AND LOW IN FULL LINES) AND STRUCTURE TREATMENTS (UNDISTURBED ON THE LEFT, SIEVED ON THE MIDDLE AND DISPERSED ON THE RIGHT). VALUES ARE EXPRESSED AS $\text{MG C-CO}_2 \cdot \text{KG}^{-1}$ DRY SOIL EQUIVALENT. ERROR BARS REPRESENT STANDARD ERROR ($N=3$).....	130
FIGURE IV.3: CUMULATIVE AND DAILY FRUCTOSE MINERALISATION FOR HIGH (DASHED LINES), MEDIUM (DOTTED LINES) AND LOW (FULL LINES) DIVERSITY TREATMENTS, IN UNDISTURBED (LEFT), SIEVED (MIDDLE) AND DISPERSED (RIGHT) SAMPLES. VALUES ARE EXPRESSED AS $\text{MG C-CO}_2 \cdot \text{KG}^{-1}$ DRY SOIL EQUIVALENT AND $\text{MG C-CO}_2 \cdot \text{KG}^{-1} \cdot \text{DAY}^{-1}$ DRY SOIL EQUIVALENT, RESPECTIVELY. ERROR BARS REPRESENT STANDARD ERROR ($N=3$).....	132
FIGURE IV.4: CUMULATIVE AND DAILY VANILLIN MINERALISATION FOR HIGH (DASHED LINES), MEDIUM (DOTTED LINES) AND LOW (FULL LINES) DIVERSITY TREATMENTS, IN UNDISTURBED (LEFT), SIEVED (MIDDLE) AND DISPERSED (RIGHT) SAMPLES. VALUES ARE EXPRESSED AS $\text{MG C-CO}_2 \cdot \text{KG}^{-1}$ DRY SOIL EQUIVALENT AND $\text{MG C-CO}_2 \cdot \text{KG}^{-1} \cdot \text{DAY}^{-1}$ DRY SOIL EQUIVALENT, RESPECTIVELY. ERROR BARS REPRESENT STANDARD ERROR ($N=3$).....	133
FIGURE IV.5: PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS (PCA) OF PHOSPHOLIPID FATTY ACIDS (PLFA) PROFILES AT THE END OF THE INCUBATION FOR THE DIFFERENT DIVERSITY TREATMENTS (HIGH IN BLACK, MEDIUM IN GREY AND LOW IN WHITE) IN UNDISTURBED, SIEVED AND DISPERSED SAMPLES.....	136
FIGURE V.1: MATRIC POTENTIAL CURVES FOR THE DIFFERENT SOILS. (CONVENTIONAL LUVISOL (LCC); ORGANIC LUVISOL (LCB); CULTIVATED BRUNISOL (BC); FOREST BRUNISOL (BF); PODZOL (PP); BARE FALLOW (36P)). ERROR BARS REPRESENT STANDARD ERROR ($N=3$).	152
FIGURE V.2: VOLUME OF PORE ACCESSIBLE BY MICROORGANISMS (A) AND FILLED BY AIR (B) AT THE INCUBATION MATRIC POTENTIAL (-31.5 kPa). VALUES ARE EXPRESSED AS $\text{CM}^3 \cdot \text{G}^{-1}$. ERROR BARS REPRESENT STANDARD ERROR ($N=3$). THE DIFFERENT LETTERS INDICATE SIGNIFICANT DIFFERENCES BETWEEN SOILS (ANOVA, $P < 0.01$).	157
FIGURE V.3: MICROBIAL COMMUNITIES INOCULATED CHARACTERISATIONS. PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS (PCA) OF PHOSPHOLIPID FATTY ACIDS (PLFA) PROFILES EXTRACTED FROM THE DIFFERENT SOILS AND FROM THE DIFFERENT MICROBIAL SUSPENSIONS (A) AND PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS (PCA) OF METABOLIC CAPACITIES WITH THE SHANNON INDEX (H) (B) ARE REPRESENTED. CONVENTIONAL LUVISOL (LCC); ORGANIC LUVISOL (LCB); CULTIVATED BRUNISOL (BC); FOREST BRUNISOL (BF); PODZOL (PP); BARE FALLOW (36P).	158
FIGURE V.4: CUMULATIVE SOIL ORGANIC CARBON MINERALISATION FOR THE DIFFERENT COMMUNITIES (LCC = FROM CONVENTIONAL LUVISOL; LCB = FROM ORGANIC LUVISOL; BC = FROM CULTIVATED BRUNISOL; BF = FROM FOREST BRUNISOL; PP = FROM PODZOL; 36P = FROM BARE FALLOW) IN THE DIFFERENT SOILS (CONVENTIONAL LUVISOL	

(LCC); ORGANIC LUVISOL (LCB); CULTIVATED BRUNISOL (BC); FOREST BRUNISOL (BF); PODZOL (PP); BARE FALLOW (36P)). VALUES ARE EXPRESSED AS MG C-CO ₂ .KG ⁻¹ DRY SOIL EQUIVALENT. ERROR BARS REPRESENT STANDARD ERROR (N=3).....	159
FIGURE V.5: CUMULATIVE SOIL ORGANIC CARBON MINERALISATION FOR THE DIFFERENT COMMUNITIES (LCC = FROM CONVENTIONAL LUVISOL; LCB = FROM ORGANIC LUVISOL; BC = FROM CULTIVATED BRUNISOL; BF = FROM FOREST BRUNISOL; PP = FROM PODZOL; 36P = FROM BARE FALLOW) IN THE DIFFERENT SOILS (CONVENTIONAL LUVISOL (LCC); ORGANIC LUVISOL (LCB); CULTIVATED BRUNISOL (BC); FOREST BRUNISOL (BF); PODZOL (PP); BARE FALLOW (36P)). VALUES ARE EXPRESSED AS MG C-CO ₂ .G ⁻¹ SOIL C. ERROR BARS REPRESENT STANDARD ERROR (N=3).....	160
FIGURE V.6: MODEL'S PARAMETERS ON RAW DATA FOR THE DIFFERENT COMMUNITIES (LCC = FROM CONVENTIONAL LUVISOL; LCB = FROM ORGANIC LUVISOL; BC = FROM CULTIVATED BRUNISOL; BF = FROM FOREST BRUNISOL; PP = FROM PODZOL; 36P = FROM BARE FALLOW) IN THE DIFFERENT SOILS (LCC = CONVENTIONAL LUVISOL; LCB = ORGANIC LUVISOL; BC = CULTIVATED BRUNISOL; BF = FOREST BRUNISOL; PP = PODZOL; 36P = BARE FALLOW). THE MINERALISABLE ORGANIC CARBON RELEASED DURING STERILISATION POOL (PARAMETER A) AND THE MINERALISABLE NATIVE ORGANIC CARBON POOL (PARAMETER B) ARE EXPRESSED AS MG C-CO ₂ .KG ⁻¹ DRY SOIL EQUIVALENT. THE RATE OF THE PARAMETER A (A) AND THE RATE OF THE PARAMETER B (B) ARE EXPRESSED AS MG C-CO ₂ .KG ⁻¹ DRY SOIL.DAY ⁻¹ . ERROR BARS REPRESENT STANDARD ERROR (N=3).....	162
FIGURE V.7: MODEL'S PARAMETERS AFTER DATA CARBON NORMALISATION FOR THE DIFFERENT COMMUNITIES (LCC = FROM CONVENTIONAL LUVISOL; LCB = FROM ORGANIC LUVISOL; BC = FROM CULTIVATED BRUNISOL; BF = FROM FOREST BRUNISOL; PP = FROM PODZOL; 36P = FROM BARE FALLOW) IN THE DIFFERENT SOILS (LCC = CONVENTIONAL LUVISOL; LCB = ORGANIC LUVISOL; BC = CULTIVATED BRUNISOL; BF = FOREST BRUNISOL; PP = PODZOL; 36P = BARE FALLOW). THE MINERALISABLE ORGANIC CARBON RELEASED DURING STERILISATION POOL (PARAMETER A) AND THE MINERALISABLE NATIVE ORGANIC CARBON POOL (PARAMETER B) ARE EXPRESSED AS MG C-CO ₂ .G ⁻¹ SOIL C. THE RATE OF THE PARAMETER A (A) AND THE RATE OF THE PARAMETER B (B) ARE EXPRESSED AS MG C-CO ₂ .G ⁻¹ SOIL C.DAY ⁻¹ . ERROR BARS REPRESENT STANDARD ERROR (N=3).....	165
FIGURE V.8: PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS (PCA) OF PHOSPHOLIPID FATTY ACIDS (PLFA) PROFILES AFTER 56 DAYS OF INCUBATION (ON THE LEFT) AND AT THE END OF THE INCUBATION (ON THE RIGHT). THE SOILS ARE REPRESENTED WITH THE DIFFERENT PATTERNS FILLED BY THE NAME OF THE INOCULATED COMMUNITIES.....	166
FIGURE V.9: PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS (PCA) OF METABOLIC CAPACITIES AFTER 56 DAYS OF INCUBATION (ON THE LEFT) AND AT THE END OF THE INCUBATION (ON THE RIGHT). THE SOILS ARE REPRESENTED WITH THE DIFFERENT PATTERNS FILLED BY THE NAME OF THE INOCULATED COMMUNITIES.....	168

TABLE DES TABLEAUX

TABLEAU I.1: LES POOLS DE CARBONE DU SOL REPERTORIES EN FONCTION DE LEUR TEMPS DE RESIDENCE MOYEN (DUNGAIT ET AL., 2012).	31
TABLEAU I.2: LES PROCESSUS INFLUENCES PAR LA STRUCTURE DU SOL (DÍAZ-ZORITA ET AL., 2002).....	35
TABLEAU II.1: CARACTERISTIQUES PRINCIPALES DU SOL SUR 0-25 CM AVANT IMPLANTATION DES DIFFERENTS SYSTEMES (D'APRES LE RAPPORT DU PROJET DMOSTRA, 2005).	63
TABLEAU II.2: PRINCIPALES DIFFERENCES ENTRE SYSTEMES DE CULTURE.....	65
TABLE III.1: X-RAY MICRO-CT DESCRIPTORS.....	96
TABLE III.2: MEANS AND STANDARD DEVIATIONS OF THE FOUR MODEL PARAMETERS FOR THE SUBSTRATE (FRUCTOSE AND VANILLIN) AND STRUCTURE (UNDISTURBED, SIEVED AND DISPERSED) TREATMENTS. IN EACH COLUMN LETTERS INDICATE SIGNIFICANT DIFFERENCES ACROSS STRUCTURE TREATMENTS ($P < 0.05$).	102
TABLE IV.1: MEANS AND STANDARD DEVIATIONS OF THE FOUR MODEL PARAMETERS FOR THE SUBSTRATE (FRUCTOSE AND VANILLIN), STRUCTURE (UNDISTURBED, SIEVED AND DISPERSED) AND DIVERSITY TREATMENTS (HIGH, MEDIUM AND LOW). IN EACH COLUMN DIFFERENT LETTERS INDICATE SIGNIFICANT DIFFERENCES WITHIN EACH TREATMENT.	134
TABLE V.1: BASIC SOIL PROPERTIES OF THE 6 SOILS USED IN THIS STUDY.	151
TABLE V.2: SOIL AND COMMUNITY FACTORS EFFECTS ON THE PARAMETERS DERIVED FROM THE MODEL USING RAW AND NORMALISED DATA. THESE EFFECT ARE SIGNIFICANT WHEN $P < 0.01$ (*) OR NO SIGNIFICANT (N.S.).	161
TABLE V.3: CORRELATION BETWEEN SOIL CHARACTERISTICS AND PARAMETERS DERIVED FROM THE MODEL USING RAW AND NORMALISED DATA. CORRELATIONS ARE SIGNIFICANT WHEN $P < 0.01$ (*) OR NO SIGNIFICANT (N.S.).....	163

ABRÉVIATIONS

<i>a</i>	Pool de carbone labile minéralisable
α	Taux de minéralisation du pool a
ACP	Analyse en Composante Principale
ANOVA	Analyse de variance (ANalysis Of VAriance)
<i>b</i>	Pool de carbone natif minéralisable
β	Taux de minéralisation du pool b
C	Carbone
CEC	Capacité d'Echange Cationique
CHCl₃	Chloroforme
CHN	Carbon, Hydrogen and Nitrogen elemental content
CO₂	Dioxyde de carbone
COS	Carbone Organique du Sol
EA	Elemental Analyser
FAO	Food and Agriculture Organisation
FAME	Fatty Acid Methyl Ester
GC	Gas Chromatography
GC-FID	Gas Chromatography coupled to a Flame Ionisation Detector
GC-MS	Gas Chromatography coupled to a Mass Spectrometer
GtC	Giga tonnes de Carbone = milliard de tonnes de Carbone
IRMS	Isotope Ratio Mass Spectrometer
KBr	Bromure de potassium
keV	Unité d'énergie; le kilo electronVolt
kGy	Unité de radiation ionisante; le kilo Gray
kPa	Unité de pression; le kilo Pascal
MIRS	Mid Infra Red Spectroscopy
MO	Matière Organique
MOS	Matière Organique du Sol
MSE	Mean Square Error
μA	Unité de l'intensité du courant électrique; le micro Ampère
μXCT	Micro-X-Ray Computed Tomography
N	Azote

NEXAFS	Near Edge X-ray Absorption Fine Structure
OM	Organic Matter
OsO₄	Tétroxyde d'osmium
P	Phosphore
PCA	Principal Component Analysis
PLFA	Phospholipid Fatty Acid
ppm	Concentration en partie par million (ex: mg.kg ⁻¹)
S	Soufre
SCV	Sous Couvert Végétal permanent
SMIR	Spectroscopie Moyen Infra Rouge
SOC	Soil Organic Carbon
SOM	Soil Organic Matter
STXM	Scanning Transmission X-ray Microscopy
<i>t</i>	Temps d'incubation en jours
TRFLP	Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism

Introduction générale :

La place du sol dans le cycle du carbone

L'augmentation de la concentration en CO₂ dans l'atmosphère résulte de l'utilisation massive des énergies fossiles par l'Homme et du changement d'usage des terres. Les changements climatiques qui en découlent sont très variables, comme par exemple la hausse des températures moyennes annuelles, le changement des régimes hydriques, la périodicité des catastrophes naturelles, et ont donc de multiples conséquences sur les écosystèmes, la ressource en eau, la sécurité alimentaire, la santé humaine (Rapport du GIEC, 2007).

La combustion en quelques centaines d'années de ces ressources fossiles (pétrole, gaz et charbon) ainsi que la conversion des surfaces agricoles ont entraîné le transfert du carbone (C) du pool géologique et du pool sol vers le pool atmosphérique. Ce carbone auparavant séquestré entre alors en interaction avec l'atmosphère sous sa forme gazeuse, le CO₂. La concentration en carbone émise chaque année vers l'atmosphère par des sources anthropiques est estimée à 8,7 milliards de tonnes de carbone (ou GtC) (Denman et al., 2007; Lal, 2008; Stockmann et al., 2013) (Fig. 1). Ceci comprend la combustion des énergies fossiles (3 Gt pour le charbon, 3 Gt pour le pétrole et 1,5 Gt pour le gaz), et également la conversion des surfaces agricoles (entre 0,6 et 2,2 Gt selon les auteurs) (McGuire et al., 2001; Houghton, 2003; Jain and Yang, 2005; Denman et al., 2007; Lal, 2008). Pour limiter cet accroissement de CO₂ dans l'atmosphère deux possibilités s'offrent à nous. La première serait de réduire l'utilisation et donc la combustion des énergies fossiles via entre autre l'utilisation des énergies renouvelables, et la seconde (qui nous intéresse particulièrement dans cette étude) serait de préserver les puits de carbone, tel que le sol.

Les sols constituent le plus grand réservoir de carbone des écosystèmes continentaux avec environ 2000 GtC stockés dans les premiers horizons (0-100 cm). Ce stock est donc plus de deux fois supérieur au stock atmosphérique (800 GtC) et quatre fois supérieur à celui de la

végétation (560 GtC) (Fig. 1). Le stock de carbone atmosphérique principalement sous forme de CO_2 est prélevé par la biomasse (les plantes) via le processus de photosynthèse. Une fois morte cette biomasse vient enrichir le pool de carbone du sol, une partie y est stabilisée, d'où la notion de puits de carbone pour le sol. La dégradation de ces matières organiques (MO) mortes sous l'action de la faune et de la microflore du sol entraîne donc la minéralisation du carbone organique sous forme de CO_2 , constituant ainsi un transfert de carbone du pool sol vers le pool atmosphérique. Le stock de carbone du sol dépend non seulement des entrées via les débris végétaux et les exsudats, mais également des vitesses de dégradation de ces composés organiques. Un petit changement de cet équilibre précaire entre entrées et sorties peut avoir d'importantes conséquences sur la climat. En effet, Kirschbaum (2000) a montré qu'un changement de 10% du stock de carbone organique du sol pouvait être équivalent à 30 ans d'émissions de CO_2 dues à l'activité anthropique (soit 30 fois 8,7 GtC). Les vitesses de décomposition sont dépendantes à la fois de l'activité des décomposeurs qui utilisent la matière organique comme source d'énergie, mais également des mécanismes menant à la stabilisation des matières organiques dans les sols. De plusieurs natures (protection physique, protection physico-chimique, récalcitrance), ces mécanismes de stabilisation protégeront les matières organiques de la biodégradation par les décomposeurs.

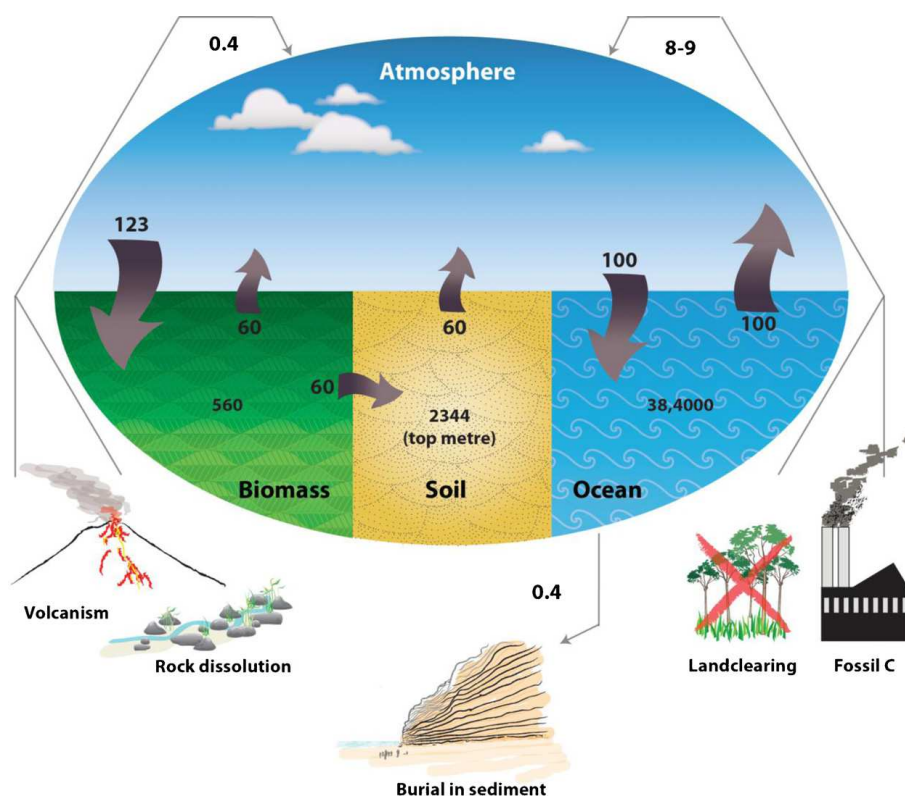


Figure 1: Cycle du carbone et flux associés en Giga tonnes de carbone (GtC) (Stockmann et al., 2013).

A l'échelle mondiale, les stocks de carbone organique des sols (COS) sont en lien avec les températures annuelles moyennes et aussi les régimes hydriques. En effet, les régions froides et humides sont caractérisées par des sols riches en carbone (Hobbie et al., 2000), avec à titre d'exemple environ 1672 GtC stockés dans les sols des écosystèmes arctique et boréal (Tarnocai et al., 2009). Ainsi une hausse des températures annuelles moyennes combinée à un changement du régime hydrique, auront vraisemblablement pour conséquence une stimulation de l'activité microbienne. Cette stimulation de la biodégradation des matières organiques des sols pourrait donc entraîner un déstockage du carbone du sol au profit du pool atmosphérique : c'est ce que l'on appelle une rétroaction positive. De plus, le sol pourrait devenir source de carbone. De même, le changement d'usage des terres et des pratiques culturales ont des effets sur le stockage de carbone dans les sols. Par exemple, selon une étude de Guo and Gifford (2002) le changement d'un système cultivé en un système prairial ou encore en une forêt permanente entraîne une hausse du stock de carbone. Il en va de même pour le changement d'un système de culture conventionnel en un système sans labour et avec une couverture végétale (West and Post, 2002; Virto et al., 2012).

Les outils actuels pour simuler l'évolution du carbone dans les sols sont des modèles prédictifs compartimentaux (Jenkinson and Rayner, 1977; Paustian et al., 1992) (ex : Century, RothC), c'est-à-dire divisés en réservoirs conceptuels de carbone. Cette compartimentation, fonction des temps de résidence moyens (ex : pools actif, lent et passif dans Century), est supposée refléter les propriétés bio physicochimiques des MOS ou de leur accessibilité aux décomposeurs. Basés sur des cinétiques d'ordre 1, ces modèles négligent les décomposeurs microbiens et leurs interactions avec les substrats. De plus, dans ces modèles, l'importance relative des régulations biologiques face aux régulations abiotiques (récalcitrance chimique, protection par adsorption, protection physique) n'est pas prise en compte de manière explicite en raison d'un manque de connaissances, comme en témoigne l'impact de l'article de Kemmitt et al. (2008). Bien que ces modèles permettent de rendre relativement bien compte de la taille des stocks existants dans différents écosystèmes, ils ne semblent cependant pas adaptés pour prédire l'évolution du carbone dans les sols, que ce soit sous l'effet de changements climatiques ou de changements d'occupation des terres et de pratiques culturales (Jenkinson and Coleman, 2008).

Afin de pouvoir prédire et anticiper le devenir du carbone via l'utilisation de modèles, il apparaît nécessaire de mieux comprendre et d'incorporer les processus qui régulent la décomposition des matières organiques dans les sols. C'est de cette nécessité de compréhension qu'est né ce sujet de thèse ayant pour objectif de faire la part de régulations biotiques (liées à l'abondance, la diversité et la structure des communautés microbiennes), et abiotiques (liées à la structure des sols contrôlant l'accessibilité des MO) dans la décomposition des matières organiques des sols. Nous verrons dans le chapitre I que les facteurs de régulation sont nombreux et expliquerons pourquoi s'être focalisé sur un des facteurs biotiques : la communauté microbienne elle-même (de par sa diversité et sa structure), et sur la structure du sol qui détermine l'habitat microbien.

Ce manuscrit se décompose en cinq chapitres encadrés par la présente introduction et une conclusion générale :

- Le premier chapitre présente le contexte de l'étude ainsi qu'une synthèse bibliographique sur les travaux déjà effectués dans le domaine et amenant à notre problématique.
- Le second chapitre est consacré à une présentation et une caractérisation à différentes échelles et via différentes techniques, d'un sol où l'application de différents systèmes de culture a conduit à sa différenciation. Ce sol sera largement utilisé pour les expérimentations de ce travail de thèse.
- Et ensuite trois chapitres présentent des travaux expérimentaux visant à déterminer et hiérarchiser différents facteurs de régulation de la décomposition des MOS. Ces trois chapitres sont rédigés en anglais et sous la forme de publications scientifiques (Introduction / Materials and Methods / Results / Discussion / Conclusion) en voie de publication. Ces chapitres peuvent donc être lus indépendamment les uns des autres.
 - Dans le chapitre III l'effet de la structure du sol sur la décomposition des MOS, une fois les effets immédiats dus à la déstructuration passés, tente d'être évalué. Ce chapitre a été accepté pour publication dans la revue *European Journal of Soil Biology*.
 - Dans le chapitre IV les effets combinés de la diversité microbienne et de la structure du sol sur la décomposition des MOS sont traités. L'article correspondant a été accepté pour publication dans la revue *Biology and Fertility of Soils*.

- Le chapitre V a pour objectif de hiérarchiser l'effet des conditions de l'habitat microbien face à celui des communautés microbiennes dans le processus de décomposition des MOS. Ce chapitre sera prochainement soumis à la revue *Soil Biology and Biochemistry*.

Chapitre I.

Synthèse bibliographique

1. Les matières organiques du sol

1.1. Définition

Les matières organiques du sol (MOS) regroupent une somme importante et hétérogène de substances carbonées d'origine végétale et animale : des débris en cours de décomposition issus de la végétation (sarments, feuilles, racines, herbe) qui constituent la litière du sol, jusqu'à l'humus solidement fixé aux particules d'argile qui garantit la pérennité structurale. Essentiellement composées de carbone, les MOS sont en moyenne composées de 50 % de carbone, 40 % d'oxygène, 5 % d'hydrogène, 4 % d'azote et 1 % de soufre. De plus, même si les MOS représentent la plus grande réserve de C à la surface de la terre, elles ne représentent que 0,5 à 10 % de la masse du sol. Les MOS représentent également une réserve essentielle en nutriments (N, P et S) pour les plantes et organismes du sol.

Les MOS peuvent être divisées en quatre fractions :

- la matière organique vivante, végétale, animale et microbienne, qui englobe la totalité de la biomasse en activité;
- la matière organique fraîche : débris d'origine végétale (résidus végétaux, exsudats) et animale (déjections, cadavres);
- la matière organique transitoire constituée des composés organiques intermédiaires provenant de l'évolution de la matière organique fraîche;
- la matière humique : composés organiques stabilisés provenant de l'évolution des matières précédentes.

Ces trois dernières fractions représentent près de 85 % de la MO totale dans l'horizon de surface d'un sol provenant d'une prairie tempérée (Bachelier, 1978).

Les MOS se renouvellent constamment dans les sols à des vitesses très contrastées, allant de quelques heures (pour des sucres simples, des acides aminés) jusqu'à des dizaines de millénaires. Ainsi dans les modèles simulant la dynamique du carbone dans les sols on distingue différents compartiments cinétiques en fonction des temps de résidence (Tableau I.1).

Tableau I.1: Les pools de carbone du sol répertoriés en fonction de leur temps de résidence moyen (Dungait et al., 2012).

Residue type	Century	RothC	Residence time (years)	C : N	Compounds
Litter	Metabolic	DPM	0.1–0.5	10–25	Simple sugars Amino acids Starch
	Structural		2–4	100–200	Polysaccharides
SOM	Active	BIO DPM	1–2	15–30	Living biomass POM Polysaccharides
	Slow	RPM	15–100	10–25	Lignified tissues Waxes Polyphenols
	Passive	HUM IOM	500–5000	7–10	Humic substances Clay: OM complexes Biochar

DPM, decomposable plant material; BIO, microbial biomass; RPM, resistant plant material; HUM, humified organic matter; IOM, inert organic matter; POM, particulate organic matter; OM, organic matter.

1.2. Leurs fonctions

Les MOS ont des fonctions essentielles dans les écosystèmes continentaux, constituant une véritable plaque tournante des cycles des éléments majeurs. Tout d'abord les MOS vont contribuer à la qualité physique des sols, puisqu'elles vont influencer sur la capacité de rétention en eau, la structure et sa stabilité, et par conséquent protéger les sols de l'érosion. Elles contribuent également à la fertilité chimique des sols en jouant le rôle de réservoir en ions utiles aux plantes, via leur capacité d'échange cationique (CEC). Dans le cas de la rétention d'ions métalliques ou de polluants, les MOS vont réguler leur concentration dans les eaux et ainsi vont contribuer à la qualité de l'eau. De plus, elles constituent la première ressource trophique et donc contribuent à la fertilité biologique des sols. Les effets des MOS sur les propriétés biologiques des sols seront détaillés dans la partie 3 de ce chapitre. Ces fonctions dépendent des quantités de MO présentes et donc des flux d'apport au sol (via la production primaire, les importations comme les produits résiduels organiques) et des flux d'export (via la biodégradation et la minéralisation, l'érosion et le lessivage).

1.3. Leur décomposition

Au cours de leur décomposition, les MOS subissent des biotransformations graduelles:

- La fragmentation et l'enfouissement par la macro et mésofaune,
- La colonisation et l'altération des résidus par la microfaune,
- La biodégradation enzymatique induisant minéralisation du C du sol par les microorganismes du sol.

Les processus de décomposition des MOS conduisant à la production de CO₂ par respiration hétérotrophe sont dépendants de la température, de la teneur en eau, de la disponibilité en nutriments, et de la quantité et qualité de ces MOS ainsi que des mécanismes de préservation associés. Puisque, comme le suggère la revue de Dungait et al. (2012), toute MO est décomposable, intéressons nous à ce qui va déterminer leur temps de résidence dans les sols. Trois mécanismes peuvent expliquer la stabilisation (ou protection) des MO dans les sols, pour des durées très variables (Sollins et al., 1996; Six et al., 2002; Lützow et al., 2006) et sont représentés dans la figure I.1.

La *récalcitrance chimique* correspond à la préservation sélective de certaines molécules comme les carbonisats. Ce mécanisme est directement lié à la composition chimique des MO et donc à la nature des entrées au sol (Rimmer, 2006). Ce mécanisme s'avère valable sur le court terme mais sur le long terme ses effets sont plus contestés (Trinsoutrot et al., 2000; Amelung et al., 2008).

La *protection physico-chimique* correspond à des interactions entre MOS et surfaces minérales ou entre MOS et ions métalliques (Chenu and Plante, 2006). L'adsorption et la complexation des MOS sur les argiles ou encore sur les colloïdes de fer et d'aluminium joue un rôle essentiel dans leur préservation, et cela grâce à leur grande surface.

La *protection physique* et plus précisément l'occlusion des MOS dans les agrégats leur confère une protection. En effet, les MOS deviennent inaccessibles aux attaques enzymatiques, ou l'activité des décomposeurs devient limitante du fait de contraintes environnementales comme le manque d'oxygène, d'azote (Angers and Chenu, 1998). Ces deux derniers mécanismes sont dépendants du type de sol, des modes d'occupation des terres et des pratiques culturales.

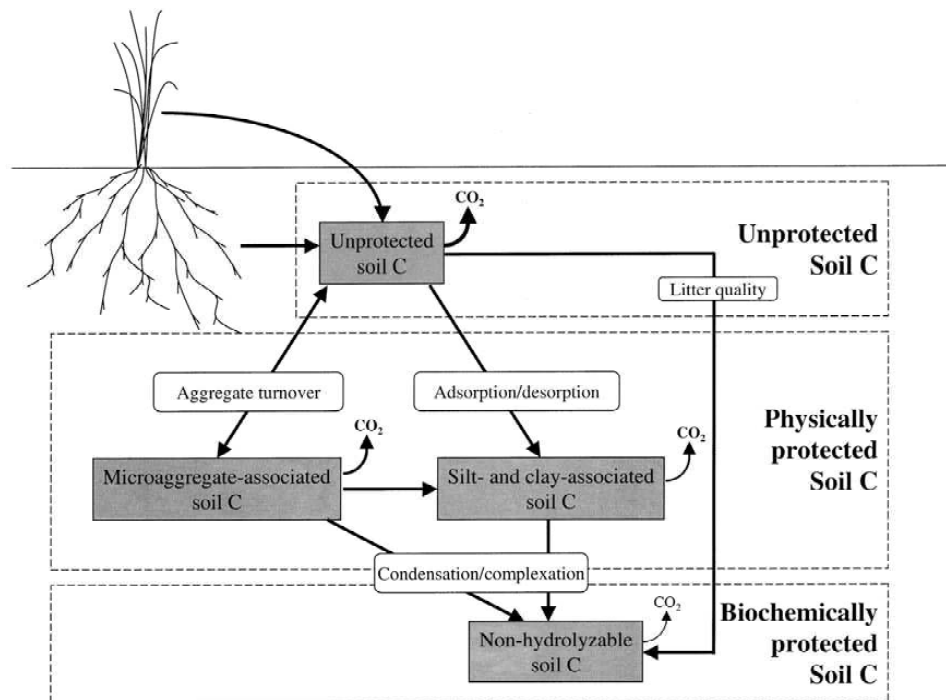


Figure I.1: Les mécanismes de protection du carbone du sol (Six et al., 2002).

Bien qu'il semblerait que la composition de la communauté microbienne n'a que peu d'importance sur le taux de décomposition des MOS protégées, cela ne signifie pas qu'il en va de même pour leur devenir. Alors que l'accessibilité d'un décomposeur à une molécule est contrôlée par des processus physiques, une fois le décomposeur ayant atteint la molécule le devenir de cette dernière est entièrement sous le contrôle de celui-ci (Schimel and Schaeffer, 2012). Par exemple, en cas de « famine », la dépense énergétique pour acquérir la MO serait telle que les microorganismes pourraient limiter leur consommation en MO puisque celle ne compenserait pas les pertes dues à l'acquisition (Ekschmitt et al., 2005). Cette régulation biologique peut donc constituer un mécanisme de préservation des MOS.

De nombreuses études ont d'ores et déjà montré l'importance des interactions matrice/microorganismes et matrice/substrat dans la régulation des MOS (ex. Young and Ritz, 2005; Chenu and Plante, 2006; Young et al., 2008). Les interactions des microorganismes et des substrats avec la matrice physique du sol déterminent donc la façon dont le C organique des sols est utilisé, ce que traduit très bien l'analogie faite par Schimel and Schaeffer (2012) entre la vie des MO dans un sol et celle des composés chimiques dans une colonne de chromatographie.

2. La structure du sol

2.1. Une seule définition possible ?

La structure du sol est un concept qualitatif, difficilement mesurable dont il n'existe pas une définition unique. Cependant, la définition la plus largement acceptée est celle de Dexter (1988), selon qui la structure du sol peut se définir comme étant *l'hétérogénéité spatiale des différents constituants ou propriétés du sol*. Cette définition, très générale, prend donc en compte les aspects de la structure à différentes échelles spatiales. La structure du sol est soumise aux variations extérieures telles que les précipitations, de l'alternance des cycles gel-dégel, de la couverture végétale et du travail du sol. Résultant donc d'interactions entre facteurs physiques, chimiques et biologiques, la structure du sol présente un autre type d'hétérogénéité, l'hétérogénéité temporelle, induisant ainsi un caractère dynamique.

On peut considérer la structure du sol selon deux points de vue :

- selon la phase solide ; elle est alors vue comme un agencement architectural de particules solides du sol formant des agrégats,
- selon la phase des vides ; elle est alors vue comme un réseau de pores de différentes tailles, formes et connectivités.

La structure du sol peut donc se définir comme l'organisation dans l'espace des particules solides du sol et des vides qu'elles délimitent pour une échelle spatiale et un moment donné.

2.2. Rôle de la structure dans le fonctionnement du sol

La structure du sol conditionne des processus physiques, chimiques et biologiques, essentiels au bon fonctionnement du sol (Tableau I.2). Concernant les processus physiques, la structure du sol aura un impact sur l'eau (sa rétention, son évaporation, sa diffusion), l'aération, la compaction, la formation de croûtes de battance et par extension sur l'érosion hydrique et éolienne. C'est de la structure du sol que dépendra sa susceptibilité aux processus érosifs et à la formation d'une croûte de battance (Leguédois and Le Bissonnais, 2004). L'eau

ne pouvant plus pénétrer dans le sol, ou encore dans le cas d'une germination en cours, la plantule ne pouvant pas percer la croûte, la productivité des cultures sera alors impactée. Concernant les processus chimiques, la structure va influencer sur la sorption et la désorption de composés, le transport de solutés et de polluants. Cela va donc conditionner la rétention et la biodégradation des composés divers dans le sol (pesticides, fertilisants, polluants). Enfin, concernant les processus biologiques, la structure du sol conditionne l'habitat microbien, c'est-à-dire le réseau poral, complexe, plus ou moins interconnecté et rempli d'air et d'eau (Young and Ritz, 2000). Nous discuterons plus amplement cette influence de la structure sur les microorganismes du sol dans les parties suivantes. Ainsi la structure du sol peut être considérée comme un facteur clé dans le fonctionnement des sols.

Tableau I.2: Les processus influencés par la structure du sol (Díaz-Zorita et al., 2002).

Processes ^a		
Biological	Chemical	Physical
Microbial and mesofauna protection	Sorption–desorption of inorganic and organic compounds	Wind and water erosion
Nutrient cycling and storage (denitrification, C sequestration, etc.)	Solute transport	Infiltration and water movement, aeration
Water imbibition by seeds and crop emergence		Crusting
Shoot and root growth		Soil water retention, evaporation

^a Listed in non-particular order of importance.

2.3. Le sol, un système poral

Voyons à présent la structure du sol selon le point de vue des vides ou espaces lacunaires ; on parle alors de système poral (représenté en rouge dans la figure I.2). Le système poral est considéré comme un réseau interconnecté de pores, développé dans les trois dimensions de l'espace et dynamique car variant dans le temps.

La description de ce système poral passe par l'évaluation de la porosité, mais aussi de la distribution de la taille des pores, de la connectivité et la tortuosité. La définition physique de la porosité est le rapport du volume des vides, au volume total apparent du sol. Il existe deux types de porosité : la porosité résiduelle et la porosité effective. La porosité résiduelle correspond à la partie du système poral constituée de pores occlus, c'est-à-dire dépourvus de communications avec le reste des espaces lacunaires et avec l'extérieure, les pores

communiquant constituent quant à eux la porosité effective (Musy and Soutter, 1991). Différentes subdivisions de la porosité efficace sont possibles, la première en fonction de la taille des pores (macroporosité et microporosité) et la seconde en fonction de l'origine de cette porosité (porosité texturale et structurale). La macroporosité est la partie du système poral dans laquelle les processus de transferts d'eau et d'air se déroulent, et correspond principalement aux vides entre agrégats. La microporosité est la partie du système poral où l'eau ne peut s'écouler par gravitation du fait des forces capillaires, et correspond le plus souvent aux pores à l'intérieur des micro agrégats (Musy and Soutter, 1991) .

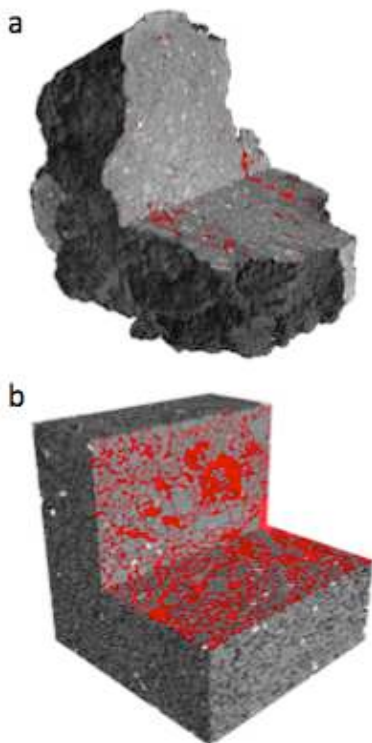


Figure I.2: Images de la structure d'un agrégat de sol obtenues par analyse en micro-tomographie à rayons X, à une résolution de 5 μm (a) et de 2 μm (b). Le réseau poral est représenté en rouge.

Le système poral, et plus précisément la porosité efficace, permet la présence et la circulation de gaz et de liquide indispensables aux phénomènes physiques, chimiques et biologiques dans les sols (Calvet, 2003). Au sein de ce réseau, l'eau se répartit en films constituant ainsi une mosaïque de microenvironnements (Jocteur Monrozier et al., 1993) très variés du point de vue physico-chimique entraînant ainsi la présence de communautés microbiennes très variées. La distribution des organismes au sein de ce réseau poral sera détaillée dans la partie 3.3 de ce chapitre.

Dans le contexte actuel de diversification des pratiques culturales et des systèmes de culture, on peut se poser la question de leurs effets sur la structure du sol et plus précisément sur la porosité, la connectivité et la tortuosité. Des études portant sur les effets du labour ou de la compaction sur le réseau poral ne montrent pas de relation claire, même si de manière générale il est clair qu'une diminution du labour entraîne une diminution de la porosité totale (Young and Ritz, 2000; Beylich et al., 2010). Il semblerait néanmoins, que l'absence de labour favorisant la biomasse des vers de terre (Henneron et al., Submitted; Pelosi et al., 2009) entraîne une plus grande proportion de pores biologiques de type macropores (Drees et al., 1994). De plus le labour semble également avoir un effet sur la diffusion des gaz (Schjonning, 1989), et la compaction des effets sur la distribution de la taille des pores, la tortuosité et la connectivité (Richard et al., 2001; Pagliai et al., 2003, 2004; Schäffer et al., 2008ab).

Dans le chapitre II nous tenterons d'observer les effets de différentes pratiques culturales sur la porosité totale, et ce à une résolution très fine (de l'ordre de 5 μm).

2.4. Les techniques de visualisation de la structure du sol

La visualisation de la structure du sol a tout d'abord commencé par l'utilisation de la microscopie optique puis électronique. Ces techniques possèdent cependant un inconvénient majeur, puisque nécessitent la préparation de lames minces et par conséquent entraînent une probable déstructuration du sol. De ces observations en microscopie ont découlé les approches fractales permettant de donner des mesures quantitatives de la structure des sol (Anderson et al., 1996; Bartoli et al., 2005).

Ce n'est que dans les années 1990, que l'étude de la structure du sol de façon non destructive a pu être possible, grâce à l'utilisation de la tomographie à rayons X (Aylmore, 1993; Joschko et al., 1993). Cette technique permet l'obtention d'images tridimensionnelles du sol d'une résolution de l'ordre de quelques micromètres pour un échantillon de quelques millimètres de diamètre (Fig. I.2). La résolution est donc dépendante de la taille de l'échantillon. L'analyse des images obtenues renseigne sur les propriétés géométriques

basiques du réseau poral notamment sur la porosité, la connectivité et la distribution de la taille des pores (ex. De Gryze et al., 2006; Nunan et al., 2006; Sleutel et al., 2008; Baveye et al., 2010). Ces données vont permettre de modéliser l'espace poral et d'implanter les modèles de la dynamique des MOS en prenant en compte avec précision le réseau poral (Monga et al., 2009; Ngom et al., 2011).

2.5. Structure du sol et matière organique

La structure du sol détermine l'accessibilité des microorganismes aux MOS (Vanveen and Kuikman, 1990; Ladd et al., 1996; Six, Paustian, et al., 2000; Ritz et al., 2004; Yoo et al., 2006), en plus de déterminer la dynamique de l'eau, des gaz, des nutriments et des enzymes. La distribution spatiale des MOS au sein du réseau poral est liée à la hiérarchisation en agrégat, puisque la MO joue un rôle essentiel dans la formation et la cohésion des agrégats (Six et al., 2004). Il a cependant été démontré que bien qu'impactant la structure du sol, les bénéfices de la MO sur les propriétés mécaniques du sol soient mineurs, et ce quelque soit le type de MO (Pereira et al., 2007). Au travers de leur modèle Struc-C, Malamoud et al. (2009) tente de traduire les effets de la quantité de MO sur la structure du sol au travers de l'agrégation.

De nombreuses études ont suggéré l'importance de la structure du sol dans la régulation de la dynamique du carbone. Par exemple, Franzluebbers and Arshad (1997) ont montré que la minéralisation du carbone était plus importante dans les agrégats de grande taille ($> 0,25$ mm), en suggérant que la MO est probablement plus physiquement protégée dans les agrégats de taille inférieure à 0,25 mm. De même, Puget et al. (1995) en utilisant la méthode de fractionnement, ont montré que le turnover du C des sols était plus lent dans les micro-agrégats.

Malgré les progrès effectués, les techniques actuelles ne permettent pas la localisation des MOS et l'étude de leur dynamique au sein du réseau poral. En effet, la discrimination des MOS apparaît comme très difficile du fait de la faible densité et de la multitude de signatures qu'a cette dernière. Avec des techniques puissantes de haute résolution (jusqu'à l'ordre du nanomètre) telles que la NEXAFS (Near Edge X-ray Absorption Fine Structure) et la STXM

(Scanning Transmission X-ray Microscopy), Wan et al. (2007) ont pu localiser les atomes de carbone dans des sols différenciés, mais il est pour le moment impossible de déterminer le type de molécule auxquelles ces atomes de C appartiennent. Lehmann et al. (2008) ont quant à eux observé que la distribution spatiale de groupements fonctionnels organiques était très hétérogène, probablement en lien avec l'hétérogénéité minérale. Cependant, ces techniques ne permettent pas une appréciation de la structure en 3 dimensions.

Des recherches sont actuellement menées pour permettre la visualisation des MOS au sein du réseau poral. Cette technique consiste à imprégner la MO d'un échantillon de sol au tétr oxyde d'osmium (OsO_4) puis à analyser l'échantillon en micro-tomographie à rayons X au synchrotron (Peth et al., Submitted).

Dans le chapitre II de ce manuscrit le lien entre structure et MOS sera abordé.

3. Les acteurs de la décomposition : les microorganismes du sol

Les organismes du sol regroupent à la fois les microorganismes tels que les archées, les bactéries, les champignons et les protozoaires, et des organismes variés classés en fonction de leur taille (Gobat et al., 2004) :

- la mésofaune : d'une taille comprise entre 0,2 et 4 mm, comprenant les collemboles, les acariens...
- la macrofaune : d'une taille comprise entre 4 et 80 mm, comprenant les gastéropodes, les insectes...
- la megafaune : de taille supérieure à 80 mm, comprenant les lombrics et vertébrés...

Cette classification permet de se rendre compte d'une première diversité existant chez les organismes du sol, celle de la taille. Mais il existe un autre type de diversité celui des métabolismes énergétiques. En effet, certains organismes consomment de la matière minérale (les lithotrophes), d'autres de la matière organique (les organotrophes), certains utilisent comme source d'énergie la lumière (les phototrophes) et d'autres des réactions chimiques (les chimiotrophes). Nous verrons par la suite que cette diversité est bien plus importante, notamment chez les microorganismes du sol (partie 3.3 de ce chapitre).

Les microorganismes du sol assurent l'essentiel de la minéralisation du C organique, ils sont donc les acteurs majeurs de la décomposition des MOS et par conséquent de la respiration hétérotrophe. Ces microorganismes vivent en aérobie ou anaérobie, sont aquatiques, et leur mobilité est inféodée à la présence d'eau. La plupart des études portant sur les effets des changements globaux ont montré que ces changements avaient un effet positif sur les microorganismes du sol. Puisque les microorganismes sont directement exposés aux changements des régimes hydriques ou à l'augmentation des températures (Young et al., 2008), l'activité de ces derniers risque d'être modifiée entraînant ainsi une modification dans la production de CO₂ (ex. Bardgett et al., 2008). En plus d'avoir un impact sur leur activité, il a été montré que les changements globaux tout comme les changements de pratiques culturales, pouvaient également modifier la physiologie des organismes et même la structure

des communautés (Schimel and Gullledge, 1998; Kong et al., 2011). Il est donc nécessaire de comprendre les mécanismes de régulation de l'activité des microorganismes du sol afin d'améliorer les modèles prédictifs de la dynamique du C, dans un tel contexte.

3.1. Les communautés microbiennes et leur activité

Une communauté microbienne est un ensemble d'organismes interagissant entre eux. Elle est le résultat de processus intrinsèques (ex. reproduction, mortalité, dispersion), d'interactions (compétition, mutualisme), et de facteurs environnementaux. Une communauté microbienne se définit donc par sa biomasse, sa diversité, sa structure, et ses fonctions dans un écosystème donné. La biomasse microbienne entre en compte dans de nombreux processus biogéochimiques et constitue un réservoir de MO. La biomasse ainsi que la diversité et la structure d'une communauté sont de bons indicateurs de la qualité biologique et du fonctionnement des sols, puisque sensibles aux variations extérieures telles que la température, la teneur en eau, les pratiques culturales... La réponse des communautés à ces perturbations environnementales peut être de deux types (Allison and Martiny, 2008) :

- la résistance ; la structure de la communauté et ses fonctions ne sont alors pas affectées,
- la résilience ; la structure de la communauté ainsi que ses fonctions changent après la perturbations puis reviennent à leur état initial.

Dans le cas où ces perturbation entraînent des modifications de la structure de la communauté microbienne et/ou de sa diversité sont affectées, et ce avec maintien des fonctions, on parle de redondance fonctionnelle (Nannipieri et al., 2003).

Ces changements environnementaux vont avoir des impacts sur les communautés microbiennes à différentes échelles de temps, on parle alors de la dynamique des communautés. Ces changements s'opèrent aussi bien à l'échelle de la journée qu'à l'échelle des saisons. A l'échelle de la journée ces changements peuvent correspondre à des variations très rapides de la disponibilité des ressources, à un événement pluvieux, à un passage de vers de terre. A l'échelle des saisons ces changements coïncident au développement de la végétation et aux fluctuations climatiques (Bardgett et al., 2005; Schmidt et al., 2007).

3.1.1. Influence de la température

Dans le contexte des changements climatiques, l'augmentation de la température va affecter la physiologie des microorganismes et la structure des communautés modifiant ainsi les processus de décomposition (Schimel and Gulledge, 1998). Ces changements de physiologie, de structure des communautés et d'activité seront vraisemblablement très variés puisque l'augmentation de température risque de ne pas être homogène dans les sols (Schimel et al., 2007). Les microorganismes du sol n'ont pas tous la même tolérance à la température, ils vont donc répondre différemment à ce stimulus (Rothschild and Mancinelli, 2001; Standing and Killham, 2007). Dans leur étude sur la réponse de la composition et du fonctionnement des communautés microbiennes face au réchauffement climatique, Zogg et al. (1997) ont montré une augmentation significative de la respiration microbienne et un changement de l'abondance des bio marqueurs des bactéries Gram – et Gram+ avec l'augmentation de la température. Il a également été observé que la température avait un effet différencié sur les profils de métabolites de souches bactériennes extraites de sol (Coucheney et al., 2008). En diminuant la disponibilité en azote minéral, il s'avère que le réchauffement des sols pourrait limiter l'activité des décomposeurs (Hu et al., 2001). Les effets de la température sont très différenciés et dépendent des variables et fonctions prises en compte.

A noter qu'une augmentation de la température va également pouvoir influencer sur les dynamiques d'eau, de gaz et de nutriments dans les sols (Standing and Killham, 2007), induisant une confusion d'effets.

3.1.2. Influence de la dynamique de l'eau et des gaz

L'eau est un élément essentiel pour le maintien de la vie dans le sol. En effet, la présence d'eau et sa dynamique au sein du réseau poral permet la diffusion des nutriments, d'enzymes, d'oligo-éléments et des gaz dissous, et la dispersion et la connectivité des communautés microbiennes (Jocteur Monrozier et al., 1993; Ranjard and Richaume, 2001). Cette connectivité entre les communautés microbiennes peut avoir des effets négatifs par la prédation et la compétition pour les ressources, mais également des effets positifs par

l'augmentation des échanges trophiques, des transferts de gènes et de la communication cellulaire (ex. le *quorum sensing*) (DeAngelis et al., 2008).

Les fortes variations de teneur en eau dans les sols, comme par exemple lors de cycles de dessiccation/humectation, impliquent une adaptation des communautés microbiennes principalement pour celles vivant dans les macropores, où le diamètre des pores est trop important pour retenir l'eau par forces de capillarité. En revanche, dans les micropores c'est le problème de la diffusion en oxygène qui se pose. En effet, l'air y est moins souvent renouvelé ce qui peut conduire à une anoxie du milieu, favorisant ainsi l'activité de microorganismes anaérobies. Dans leur revue portant l'effet de l'humidité des sols sur la respiration hétérotrophe des microorganismes, Moyano et al. (2013) renforce l'importance de la prise en compte de l'eau à l'échelle porale, et donc de la notion de potentiel matriciel dans les études sur la dynamique du C des sols.

3.1.3. Influence de la quantité et de la qualité de la matière organique

La MO est la source principale d'énergie des communautés microbiennes. La quantité et la qualité de la MO sont intrinsèquement liées à la nature de la végétation. Nombreuses sont les études ayant déjà mis en évidence l'influence de la qualité des MOS sur les communautés microbiennes (Zhou et al., 2002; Marschner et al., 2003; Lauber et al., 2008). Par exemple, Lejon et al. (2007) dans leur étude portant la densité et la structure génétique des communautés microbiennes de deux sols agricoles, ont démontré que la composition des communautés microbiennes était influencée par la quantité relative de substances humiques (acides humiques et fulviques). De même, Nicolardot et al. (2007) ont montré que la structure génétique des communautés bactériennes et fongiques était dépendante des systèmes de culture, en faisant l'hypothèse que les différentes pratiques induisaient différentes qualités biochimiques des résidus végétaux.

3.1.4. Influence de la texture du sol

La texture du sol se caractérise par la composition granulométrique, c'est-à-dire la répartition des minéraux par catégories de taille. En comparant la composition des communautés microbiennes de 47 sols cultivés, Johnson et al (2003) ont observé une corrélation entre la texture des sols et les empreintes moléculaires des communautés bactériennes associées. Cette relation avait déjà été observée dans une étude comparant 16 sols provenant de différents continents (Gelsomino et al., 1999). Ces résultats suggèrent que la composition de la communauté microbienne est dépendante de cette propriété du sol. De plus, l'étude de Groffman et al. (1996) tend à montrer que l'effet de la texture du sol sur la biomasse et l'activité microbienne est plus important que celui induit par les différentes plantes de couverture. Cependant il ne faut pas perdre de vue que la texture d'un est fortement corrélée à la teneur en MO, pouvant engendrer une confusion d'effets.

3.1.5. Influence du pH

Dans les sols, le pH est dépendant de la nature de la roche mère (ex. une roche mère de nature quartzeuse induira un pH acide) et de l'eau (Standing and Killham, 2007). Les fluctuations de pH apparaissent déterminantes dans la composition, la structure et la diversité des communautés microbiennes (Fierer and Jackson, 2006; Lauber et al., 2008). Bååth et al. (1995) ont observé des changements dans les profils des acides gras phospholipidiques (PLFA) avec le pH du sol, suggérant que le pH a un impact sur la structure des communautés microbiennes. Plus tard, Bååth and Anderson (2003) et Högberg et al. (2007) ont montré différentes corrélations entre pH du sol et ratio champignons/bactéries, et entre pH de sol et biomasse.

3.2. Abondance, diversité et fonction

L'abondance et la diversité des décomposeurs microbiens du sol sont très élevées. Par exemple, dans un gramme de sol cultivé on peut observer jusqu'à 10^9 bactéries, 10^5 protozoaires et 1 km d'hyphe mycélien (Young and Ritz, 2005), et sur un hectare la biomasse

microbienne peut s'élever à 3000 kg (Ranjard and Richaume, 2001). La diversité des microorganismes du sol peut s'observer à différents niveaux: à l'échelle du gène, à l'échelle de l'espèce ou encore à l'échelle du fonctionnement. Grâce au développement d'outils moléculaires performants, cette diversité a pu être caractérisée et quantifiée. Ainsi, dans un gramme de sol on peut trouver entre 6000 et 10000 génomes bactériens (de taille similaire à *E.coli*) dans un sol organique (Torsvik et al., 1998; Torsvik and Øvreås, 2002).

Les études portant sur les effets des pratiques culturales sur la diversité des organismes du sol tendent à montrer l'influence du labour, des plantes de rotation et des intrants chimiques (Lupwayi et al., 1998, 2001; Ovreas and Torsvik, 1998). Ainsi, Lupwayi et al. (2001) ont observé une diversité bactérienne plus importante dans des systèmes non labourés, et Ovreas and Torsvik (1998) ont observé une diversité microbienne plus importante dans le sol d'un système biologique. Dans les systèmes en agriculture conventionnelle, c'est-à-dire labourés avec apports de fertilisants chimiques et de différents biocides sans doute responsables de la perte de diversité, la question est de savoir si les fonctions du sol sont maintenues.

De nombreuses études ont d'ores et déjà testé l'influence de la diversité microbienne des sols sur de nombreuses fonctions telles que la décomposition de la MO, la nitrification/dénitrification, la résistance et la résistance à la perturbation, la porosité et également la productivité des plantes. Pour ce faire, différentes approches peuvent être utilisées :

- La première et la plus simple, est d'utiliser les différentes diversités microbiennes résultant de différents usages ou pratiques et cela pour un même sol (Degens et al., 2001; Griffiths et al., 2001a).
- La seconde approche consiste à manipuler la diversité microbienne en réalisant des assemblages d'espèces et/ou de souches bactériennes (Bell et al., 2005) : c'est l'*approche par assemblage*. Cette technique n'a à notre connaissance été expérimentée que dans le milieu aquatique.
- Avec la troisième approche la diversité microbienne est également manipulée mais cette fois érodée avec des fumigations répétées au CHCl_3 (Griffiths et al., 2000; Chander et al., 2002) ou alors des biocides spécifiques (Ingham and Coleman,

1984). Du fait qu'avec cette approche des espèces sont éliminées, elle est appelée *approche destructive*.

- Enfin la quatrième et dernière approche, plus drastique que toutes les autres consiste à inoculer un sol préalablement stérilisé (ex. par irradiation aux rayonnements gamma) avec des dilutions successives de la suspension microbienne initiale du sol, c'est-à-dire non stérilisé (Griffiths et al., 2000; Wertz et al., 2006, 2007). Avec cette approche, les microorganismes sont ajoutés à un environnement stérile, elle peut donc être qualifiée d'*approche constructive* (Nannipieri et al., 2003).

Dans la première approche, aucun changement artificiel de diversité microbienne n'est fait, puisque sont utilisées les variations naturelles de diversité. Cependant avec cette méthode, les variations de diversité étudiées sont vraisemblablement plus faibles que celles utilisées dans les *approches destructive* et *constructive*, et ces variations sont confondues avec les autres propriétés des sols. En utilisant l'*approche par assemblage*, Bell et al. (2005) montre une augmentation du taux de respiration avec l'augmentation de la diversité (Fig. I.3). Cette augmentation atteint rapidement un plateau qui peut être dû à la redondance fonctionnelle des souches assemblées ou à des mécanismes de sélection. Ceci pourrait refléter ce qui se passe réellement dans les sols. Cependant, avec cette méthode un biais est induit puisque seuls les microorganismes cultivables sont utilisés, et on sait que la plupart des bactéries du sol ne le sont pas.

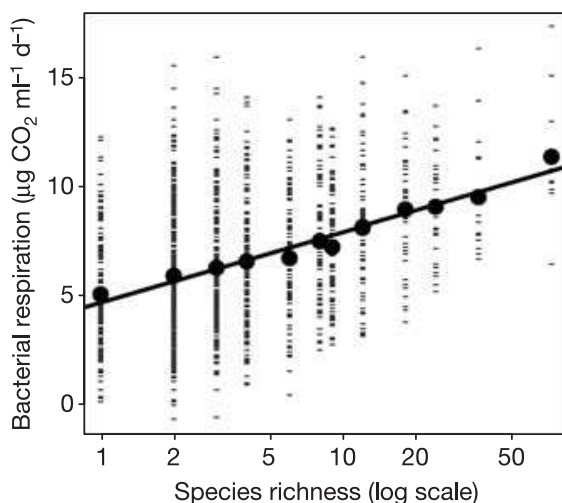


Figure I.3: Lien entre la diversité bactérienne et la fonction de respiration (Bell et al., 2005).

Les troisième et quatrième approches sont également connues sous le nom *d'approche par retrait*, puisque la diversité initiale correspond à la diversité maximale et les diversités résultant de la manipulation (par fumigation ou dilution) sont moindres. En utilisant l'*approche destructive* avec fumigation au CHCl_3 , Griffiths et al. (2000) ont trouvé la preuve que la réduction de la diversité microbienne n'est pas aléatoire puisque certains traits physiologiques des microorganismes sont sélectionnés. Avec l'*approche constructive*, seuls les microorganismes extractibles sont utilisés et par conséquent la communauté résultante pourrait avoir une trop faible diversité microbienne (Griffiths et al., 2000; Nannipieri et al., 2003). Cependant une simulation mathématique réalisée par Wertz et al. (2006), d'après les travaux de Gans et al. (2005), a montré que la gamme de diversité engendrée par de telles dilutions pouvait varier de 0 à 8.10^6 espèces de bactérie par gramme de sol (Fig. I.4).

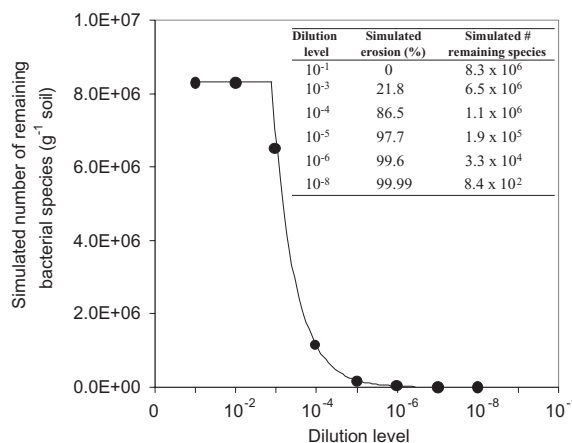


Figure I.4: Effet des dilutions sur la diversité bactérienne (Wertz et al., 2006).

Ces expériences de manipulation de la diversité ont rarement montré l'existence d'un lien entre diversité microbienne et fonctions, amenant à la conclusion que les communautés microbiennes sont caractérisées par une grande redondance fonctionnelle. Comme nous allons le voir plus en détail dans la partie suivante, les interactions entre les microorganismes du sol et leur habitat peuvent affecter leur fonctionnement. On peut donc alors se demander comment la diversité va affecter les interactions entre les communautés microbiennes et leur habitat, et quelles en seront les conséquences sur le fonctionnement microbien. Dans le chapitre IV de ce manuscrit nous tenterons de répondre à cette question, en manipulant à la fois la diversité microbienne (avec l'*approche constructive* afin de s'affranchir de la sélection physiologique des organismes) et l'habitat microbien, et en faisant l'hypothèse que les

microorganismes non extractibles correspondent aux espèces les moins abondantes et probablement celles qui seraient perdues lors des dilutions.

3.3. Distribution spatiale au sein du réseau poral

L'habitat microbien est défini comme un espace où les microorganismes ont accès à la ressource énergétique, aux nutriments, à l'eau et à l'air. De plus, cet espace peut conférer aux microorganismes un abri permettant de se protéger de la prédation et des conditions défavorables, et la possibilité d'interagir avec d'autres organismes (Young et al., 2008). La structure du sol joue donc un rôle dans la régulation des interactions entre les populations microbiennes de part la création de nombreux habitats contrastés.

L'observation directe de cellules microbiennes par microscopie électronique (Kilbertus, 1980; Foster, 1988) et la détermination de la biomasse microbienne après fractionnement des agrégats (Gupta and Germida, 1988; Hattori, 1988) furent les premières étapes dans l'étude de la distribution des microorganismes du sol. Foster (1988) a ainsi pu mettre en évidence le fait que la distribution des microorganismes était liée à la présence de racines d'une part et à l'espace poral. Cette étude de la distribution des microorganismes dans leur environnement a pu être améliorée par l'utilisation de la fluorescence couplée à la microscopie optique (Nunan et al., 2003). Toutes ces observations ont montré une distribution spatiale très hétérogène des microorganismes au sein du réseau poral du sol. Les bactéries du sol sont principalement localisées dans la porosité fine du sol, moins sujette aux stress hydriques, thermiques, chimiques et biologiques. Ainsi, il est estimé dans une étude que près de 80% des bactéries du sol vivent dans des pores de taille comprise entre 2 et 6 μm de diamètre (Hattori, 1988), comme le montre la figure I.5. Les micro-agrégats constituent donc les environnements les plus favorables à la vie bactérienne, alors que les surfaces des agrégats constituent des environnements privilégiés pour les champignons (Chenu et al., 2001). Avec les avancées techniques dans l'analyse des microorganismes, la caractérisation de leur localisation physique et la compréhension de leur distribution spatiale ont été rendues possibles (Nunan et al., 2002, 2003; Gonod et al., 2003; Grundmann, 2004; Young and Crawford, 2004) (Fig. I.6).

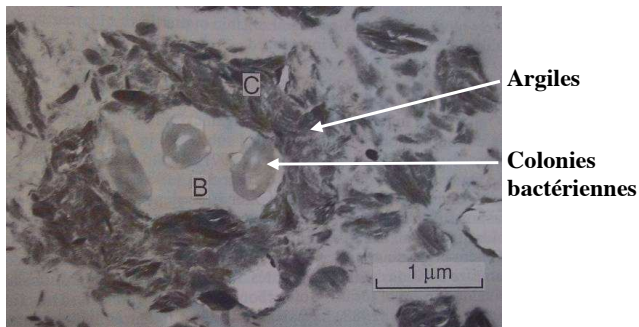


Figure I.5: Colonies bactériennes dans une structure argileuse observées en microscopie électronique à transmission (Ladd et al., 1993).

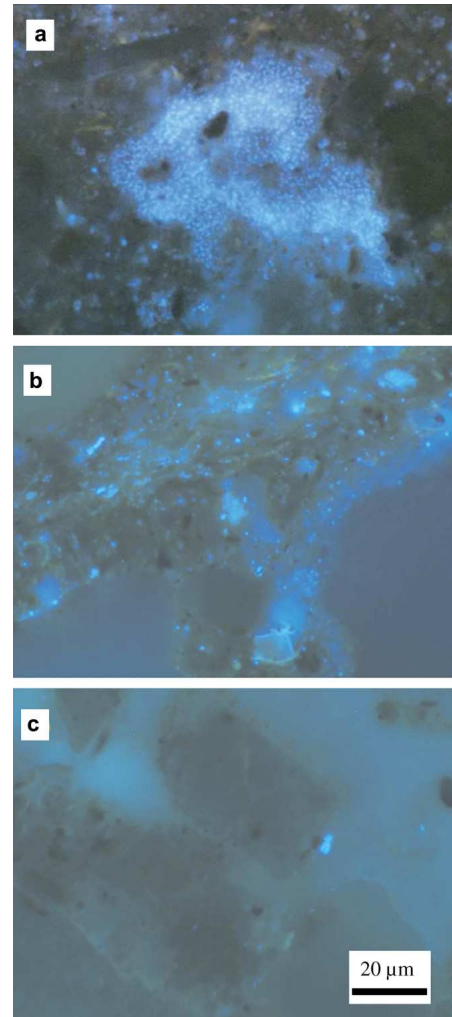


Figure I.6: Colonies bactériennes au sein du réseau poral d'un sol de surface amendé avec du glucose (A), et après consommation du glucose (B) et au sein d'un sol de profondeur (C) (Nunan et al., 2003). Les colonies sont colorées en bleu.

La distribution spatiale des microorganismes dans les sols est de même que pour leur structure, leur composition, leur diversité et leur activité, influencée par les dynamiques de l'eau et des gaz, par la teneur en MO, et par la texture du sol. Les variations de teneur en eau dans les sols ont un effet sur la distribution spatiale des microorganismes (Ranjard and Richaume, 2001). Par exemple, les cycles de dessiccation/humectation affectent directement les communautés microbiennes localisées dans la macroporosité impliquant une adaptation particulière des microorganismes. A l'inverse, les communautés situées dans la microporosité où la rétention en eau est plus importante seront moins impactées. L'effet des gaz dans les sols est inverse à celui de l'eau, avec une raréfaction de l'oxygène dans la microporosité pouvant conduire à des états anoxiques. La matière organique étant la source énergétique pour les microorganismes, est largement impliquée dans les distributions spatiales des microorganismes. Ainsi dans les sols bien agrégés on peut retrouver jusqu'à 50% de la MO dans les micro-agrégats (Ladd et al., 1993; Virto et al., 2008). De nombreux travaux ont montré que la ségrégation spatiale ou au contraire la co-localisation des MOS avec les

microorganismes pouvaient influencer les vitesses de dégradation (Balesdent et al., 2000; Chenu and Stotsky, 2002; Chenu and Plante, 2006; Salomé et al., 2010). La texture des sols est un facteur important de la distribution spatiale des microorganismes dans les sols puisqu'influençant de façon directe la structure du sol. Par exemple, Chenu et al. (2001) ont montré que dans les sols sableux les bactéries sont localisées à la surface mais aussi à l'intérieur des agrégats, tandis que dans les sols argileux elles se situent majoritairement à l'intérieur des agrégats. De plus, la prédation joue un rôle dans la distribution des microorganismes dans les sols. Les populations bactériennes sont sous le contrôle de prédateurs tels que les Protozoaires, qui du fait de leur taille, ne sont pas localisés là où la majorité des populations bactériennes se trouvent, c'est-à-dire dans les pores de diamètre inférieur à 10 μm (Postma et al., 1989; Sessitsch et al., 2001).

La structure du sol est un des facteurs dominant contrôlant les processus de décomposition des MOS (Vanveen and Kuikman, 1990), puisqu'elle détermine la distribution spatiale des microorganismes au sein du réseau poral et leur accessibilité aux MOS (Ladd et al., 1996; Six, et al., 2000; Ritz et al., 2004; Yoo et al., 2006). La structure semble même influencer directement sur les communautés microbiennes, puisqu'il a été démontré qu'une faible la connectivité du réseau poral induisait une augmentation de la diversité bactérienne (Carson et al., 2010), et que la taille de pores influait sur la structure des communautés microbiennes (Ruamps et al., 2011).

4. Le contexte : le projet MEPSOM

Le projet MEPSOM ou « Modélisation multi-échelle et propriétés émergentes de la dégradation microbienne des matières organiques dans les sols » est un projet financé par l'ANR au travers du programme SYSCOMM. Porté par Claire Chenu, il a pour objectif général de comprendre et prédire les transformations microbiennes du C au sein du sol qui constitue un environnement complexe et structuré, et cela dans le contexte actuel des changements climatiques et en se focalisant sur la disponibilité de l'eau.

L'objectif principal est de développer et tester de nouvelles approches de modélisation de la dynamique des MOS, ce qui permettra d'identifier les caractéristiques du système sol contrôlant cette dynamique. Ceci sera réalisé en tenant compte de (i) l'environnement physico-chimique dans lequel les microorganismes vivent et évoluent, (ii) l'organisation et la distribution spatiale des microorganismes ainsi que de la matière organique, et (iii) la diversité des communautés microbiennes du sol. Ainsi l'importance relative des facteurs biotiques et abiotiques dans la régulation des dynamiques de la MOS pourra être déterminée. Le développement des modèles suivra deux voies, la première consiste en une description détaillée de la structure du sol et la seconde en une assimilation des informations obtenues sur le système comme la géométrie du réseau poral ou les fonctions microbiennes au niveau de la communauté.

Ce projet est divisé en quatre work packages. Le premier a pour but de fournir une description complète (physique, chimique et biologique) des systèmes étudiés pour implémenter les modèles. Le second work package se focalise sur le développement de modèles concernant les transformations biogéochimiques et les dynamiques biologiques dans l'espace poral. Enfin, les troisième et quatrième work packages basés sur une série d'expérimentations dans des systèmes physiquement simples pour l'un et complexes pour l'autre, ont pour but (i) d'établir une hiérarchie entre facteur biotiques et facteur abiotiques, tel que l'habitat, dans la régulation de la décomposition du C du sol ou du C apporté et (ii) de tester et valider les modèles développés dans le work package 2.

Cette thèse est rattachée au work package 4, ainsi les expérimentations effectuées en milieu complexe, c'est-à-dire dans le sol, seront utilisées dans l'implémentation des différents modèles. Les expérimentations menées fourniront des données sur la relation entre structure du réseau poral et activité de décomposition du carbone du sol, mais aussi sur l'importance de la diversité et de la composition des communautés microbiennes vis à vis de la décomposition du carbone du sol.

5. Problématique, objectifs et démarche de la thèse

Cette synthèse bibliographique présente une revue globale des connaissances actuelles sur les MOS et sur les principaux facteurs influençant leur décomposition (dans la partie 1). Elle avait notamment pour but de mettre en avant l'importance de deux types de régulateurs de la dynamique du C du sol, c'est-à-dire :

- la structure du sol qui définit l'habitat microbien (dans la partie 2), et,
- les décomposeurs microbiens eux mêmes, de par leur structure et leur diversité (dans la partie 3).

En effet, puisque directement affectées par les changements climatiques d'une part et les changements d'usage des terres et de pratiques culturelles d'autre part, la structure du sol et les communautés microbiennes apparaissent comme des régulateurs de la dynamique du C du sol dont la compréhension est indispensable.

L'objectif de cette thèse est donc d'évaluer et de hiérarchiser l'importance relative des propriétés de l'habitat microbien, et particulièrement celle de la structure du sol, face aux propriétés des communautés microbiennes, du point de vue de leur structure, de leur composition mais également de leur diversité. Pour ce faire, des dispositifs expérimentaux permettant de faire varier les propriétés de l'habitat microbien et celles des communautés microbiennes de façon indépendante ou simultanée ont été mis en place.

Le chapitre II présente les résultats de la caractérisation d'un sol où l'application de différents systèmes de culture a conduit à sa différenciation. Contrairement aux chapitres III et IV, les différences observées entre les systèmes sont dites « naturelles » c'est-à-dire non manipulées artificiellement. En effet, dans les chapitres III et IV ce sont respectivement, la structure du sol et la diversité microbienne qui sont manipulées afin de répondre aux questions 1 et 2 :

Question 1 : Quelle est l'importance relative de la structure du sol dans la décomposition des MOS?

Question 2 : Quelle est l'importance relative de la diversité microbienne dans la décomposition des MOS?

Enfin dans le chapitre V, des différences naturelles de propriétés de l'habitat microbien et de communautés microbiennes sont utilisées pour tenter de hiérarchiser ces régulateurs de la décomposition des MOS et donc répondre à la question 3 :

Question 3 : Existe t-il une hiérarchie entre propriétés de l'habitat microbien et communautés microbiennes dans la régulation de la décomposition des MOS ?

Grâce à la figure I.8, où les différents mécanismes de régulation de la décomposition des MOS sont représentés, la démarche effectuée lors de ce travail de thèse et les questions posées ont été clairement explicitées.

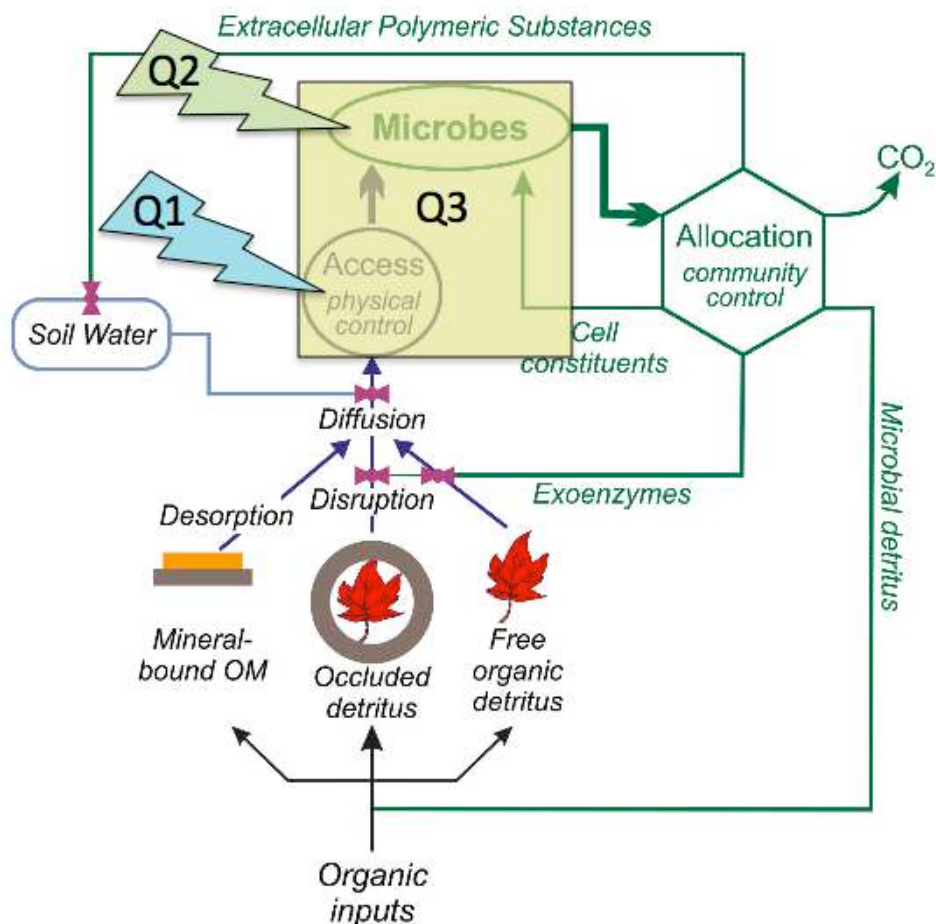
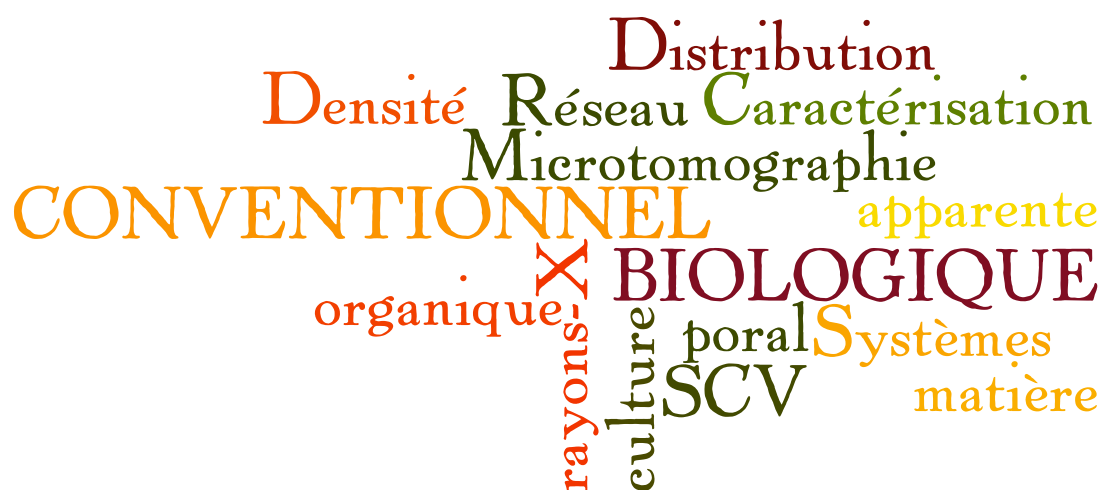


Figure I.7: Les régulations de la décomposition des matières organiques des sols (d'après Schimel and Schaeffer, 2012).

AVANT-PROPOS AU CHAPITRE II

Ce chapitre a été conçu dans le but de présenter et caractériser le sol sur lequel une grande partie du travail de cette thèse a été réalisé. Pour ce faire, différentes variables ont été analysées et différentes échelles d'étude ont été employées.



Chapitre II. Caractérisation multi-variables et multi-échelles d'un sol sous différents systèmes de culture

RÉSUMÉ

La prédiction des stocks de C des sols représente un enjeu majeur dans le double contexte des changements climatiques et d'évolution rapide des systèmes de culture. L'amélioration des modèles prédictifs de l'évolution de ces stocks passe par une meilleure connaissance et compréhension des processus qui régulent la décomposition des MOS. Les essais au champ de longue durée où différents systèmes de culture mis en place afin de réaliser une évaluation de leurs potentialités agronomiques, constituent d'excellents outils pour l'étude de la dynamique des MOS.

Deux démarches d'étude visant à exploiter la variabilité des caractéristiques d'un sol sous des systèmes de culture contrastés pour expliquer les dynamiques des MOS ont été poursuivies. La première démarche fut de caractériser le sol sous les différents systèmes (via des analyses élémentaires en C et N, des mesures de densité apparente, de biomasse microbienne, de structure des communautés microbiennes, et de minéralisation basale (sur 70 jours), afin de déterminer quels sont les paramètres influençant le plus la décomposition du C des sols. La seconde démarche a été d'analyser à fine échelle des agrégats provenant des différents systèmes de culture, dans le but de voir si une relation existait entre architecture du réseau poral et MO (quantité et qualité).

Les résultats de la première partie montrent une différenciation nette des caractéristiques du sol sous système SCV par rapport à celles du sol sous systèmes conventionnel et biologique : concentration des matières organiques dans les premiers centimètres, biomasse microbienne et densité apparente plus élevées, structure des communautés avec une composante fongique plus importante, et minéralisation du C plus lente. Dans la seconde partie, le sol sous système SCV s'avère être celui avec la plus grande variabilité en terme de quantité et composition de la MO et également en terme d'architecture du réseau poral.

Mots-clés:

Système de culture ; Conventionnel ; Biologique ; Sous Couvert Végétal permanent; Microtomographie à rayons X ; Porosité; Distribution de la matière organique.

1. Introduction

Pour répondre aux différents objectifs de production agricole que sont l'augmentation de la demande en produits agricoles, le maintien de la rentabilité et de l'emploi agricole, et cela en tenant compte des exigences environnementales telles que la lutte contre la pollution, la préservation de la biodiversité, la recherche agronomique doit mettre au point de nouveaux modes de production. La mise au point d'essais au champ de longue durée, où sur un même sol sont appliqués différents systèmes de culture, permet une évaluation de ces systèmes.

Dans la compréhension des processus régulant les dynamiques des MOS, l'analyse des impacts sur le sol de ces systèmes de culture apparaît comme un formidable outil. Ce type de suivi a d'ores et déjà montré les effets contrastés des pratiques et systèmes de culture sur différents facteurs de la décomposition des MOS tels que la nature des apports organiques, l'abondance et la nature des décomposeurs (ex. Kong et al., 2011) et la structure du sol (ex. Balesdent et al., 2000), et sur le stockage de C dans les sols. Ainsi il semblerait que les systèmes de culture en agriculture biologique aient des impacts variables sur le stockage de C (Robertson and Campbell, 1997; Robertson et al., 2000; Leifeld and Fuhrer, 2010) ; que les systèmes sans labour et avec une couverture végétale puissent stocker du C sur les premiers centimètres de profondeur (West and Post, 2002; Lal, 2004; Franzluebbers, 2005; Corbeels et al., 2006; Virto et al., 2012). Pour un même sol sous différents systèmes de culture, on peut disposer de structures et de statuts microbiens différenciés, et analyser leurs effets respectifs sur la décomposition des MOS.

Dans la première partie de ce chapitre nous proposons de caractériser un sol sous trois systèmes de culture contrastés, afin de déterminer quels sont les paramètres physiques et/ou biologiques pour lesquels la différenciation a été la plus importante et d'en analyser les conséquences possibles sur la dynamique des MO associées.

Des études géostatistiques ont montré que la grande majorité de la variabilité spatiale de la décomposition du carbone des sols est due à des processus ayant lieu à l'échelle micrométrique (Robertson et al., 1997; Herbst et al., 2009; Lamparter et al., 2009). Les communautés microbiennes vivent dans le réseau poral et donc leur accès aux substrats

organiques, à l'oxygène et à l'eau dépend de leur localisation au sein du réseau poral, ainsi que de la distribution du carbone organique (Sexstone et al., 1985; Prove et al., 1990; Linnquist et al., 1997; Wang et al., 2001). Ainsi une étude récente a montré l'existence d'une biogéographie microbienne à l'échelle porale (Ruamps et al., 2011). La question est à présent de savoir si il en va de même pour la distribution de la MO au sein du réseau poral. A notre connaissance, la relation entre réseau poral et matière organique n'a pas été étudiée ceci probablement à cause des difficultés méthodologiques liées à de telles analyses.

Dans la seconde partie nous nous intéresserons donc à cette relation entre réseau poral et matière organique. Le but sera d'identifier les corrélations pouvant exister entre la structure du sol et la distribution du carbone organique, à l'échelle des agrégats de sol. Dans cette optique nous analyserons la porosité, l'abondance et la qualité des matières organiques dans des agrégats d'un sol sous différents systèmes de culture. Cette relation est d'une grande importance dans la compréhension des phénomènes de minéralisation des MOS, car elle se situe à l'échelle de l'habitat microbien.

2. Matériels et méthodes

2.1. Présentation du site expérimental

Le site expérimental de La Cage situé à l'INRA de Versailles (France), est un essai de longue durée, où l'application de quatre systèmes de culture (conventionnel ou intensif, intégré, biologique et semis direct Sous Couvert Végétal permanent (SCV)) a conduit à la différenciation du sol. Mis en place en 1997, cet essai a pour but d'évaluer les performances environnementales et techniques de ces quatre systèmes de culture dans le contexte de l'agriculture du grand bassin parisien, c'est-à-dire avec une forte proportion de blé (rotation un an sur deux) et l'absence d'élevage donc de fertilisant organiques. Les caractéristiques générales du sol sont présentées dans le tableau II.1. Le dispositif de l'essai comprend deux blocs (I et II) subdivisés en quatre sous blocs correspondant aux quatre systèmes de culture. Ces sous blocs sont eux même découpés en deux parcelles de façon à ce que le blé soit présent tous les ans sur tous les systèmes de culture (Figure II.1).

Tableau II.1: Caractéristiques principales du sol sur 0-25 cm avant implantation des différents systèmes (d'après le rapport du projet Dmostra, 2005).

Texture	<i>mg.g⁻¹ sol</i>	Argiles (<2 µm)	167
	<i>mg.g⁻¹ sol</i>	Limons fins (2-20 µm)	182
	<i>mg.g⁻¹ sol</i>	Limons grossiers (20-50 µm)	380
	<i>mg.g⁻¹ sol</i>	Sables fins (50-200 µm)	236
	<i>mg.g⁻¹ sol</i>	Sables grossiers (200-2000 µm)	35
Matières organiques	<i>mg.g⁻¹ sol</i>	C	10,0
	<i>mg.g⁻¹ sol</i>	N	1,01
pH (eau)			7,4

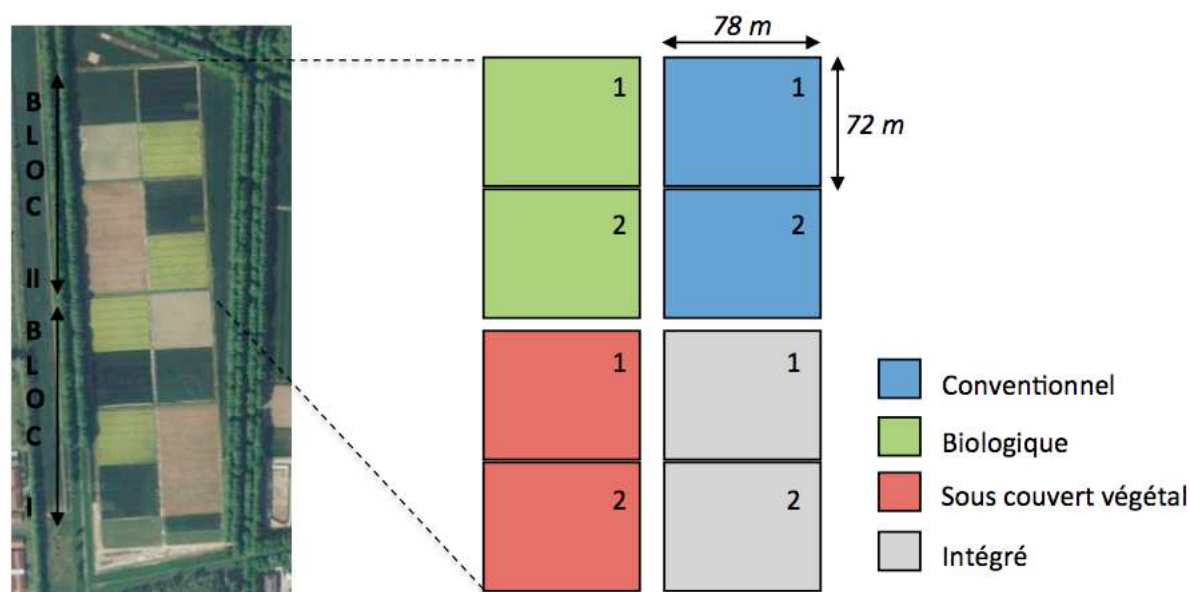


Figure II.1: Le dispositif de l'essai de La Cage situé à l'INRA de Versailles (France).

Les quatre systèmes de culture se distinguent par leurs objectifs (rendements, biomasse, ...), leurs contraintes associées et donc par les voies qui seront mises en œuvre pour atteindre ces objectifs tout en s'adaptant à ces contraintes. Tout d'abord, le système conventionnel est fondé sur la recherche de forts rendements d'où l'utilisation de variétés très productives et de bonnes qualités boulangères pour le blé, d'amendements azotés en grande quantité et de pesticides, engendrant de forts risques environnementaux. Afin de favoriser le fonctionnement racinaire le labour est pratiqué tous les ans sauf après la culture de pois. Avec ces hauts niveaux de productions ce système garantit la rentabilité économique. Ce système correspond à celui dominant actuellement la région. Ensuite, le système intégré a pour objectif de maintenir la marge économique en diminuant les quantités d'intrants apportés et en acceptant une baisse des rendements. Ainsi les risques d'impact environnementaux sont limités. Le labour est pratiqué un an sur deux pour favoriser le bon fonctionnement racinaire et pour limiter les risques parasitaires et de maladies. Puis le système Sous Couvert Végétal permanent est basé sur la suppression du travail du sol et le maintien d'une plante de couverture (fétuque puis luzerne) y compris pendant le cycle de la culture principale. La culture commerciale est implantée dans la culture de couverture contrôlée par fauchage ou l'utilisation d'herbicide. Enfin, le système biologique satisfait le cahier des charges de l'agriculture biologique interdisant l'emploi d'intrant de synthèse tels que les pesticides chimiques et les engrais minéraux. De manière à lutter contre les maladies et les mauvaises herbes, des variétés résistantes et le travail du sol sont utilisés. Dans le cas de la région du

bassin parisien, l'absence d'élevage oblige à introduire des légumineuses en rotation pour assurer la nutrition azotée des cultures, et ponctuellement des engrais organiques sont ajoutés.

Dans ce chapitre nous nous intéresserons uniquement aux systèmes conventionnel, biologique et sous couvert végétal permanent (SCV). En effet, ces systèmes nous semblaient, au vu de la littérature et des résultats antérieurement obtenus sur le site (Balabane et al., 2005), les plus pertinents en terme de variations des caractéristiques structurales et microbiennes qui sont susceptibles d'affecter la biodégradation des matières organiques des sols. Le tableau II.2 présente les caractéristiques des systèmes de culture choisis.

Tableau II.2: Principales différences entre systèmes de culture.

	Conventionnel	Biologique	SCV
Travail du sol	Labour 3ans/4	Labour	Non labour
Objectif de production de biomasse	+++	+	++
Utilisation de pesticides	+++	0	++(+)
Utilisation de fertilisants	+++	0	++
Couverture permanente	Non	Non	Oui
Rendement de blé (moyenne depuis 1998)	9,8 t.ha ⁻¹	5,0 t.ha ⁻¹	7,7 t.ha ⁻¹
Entrées de C au sol	+++	+	++

2.2. Caractérisation du sol sous les trois systèmes de culture

2.2.1. Profils des teneurs en carbone et azote organiques, rapport C/N et biomasse microbienne

En décembre 2009, trois prélèvements de sol sur 40 cm de profondeur ont été réalisés dans chacun des trois systèmes de culture étudiés. De retour au laboratoire, les prélèvements de 40 cm de long ont été découpés tous les 2 cm afin d'obtenir des sous échantillons qui ont ensuite été séchés à l'air et broyés. Une fois séchés et broyés les échantillons sont analysés via un analyseur élémentaire de type CHN (CHN NA 1500, Carlo Elba) afin d'obtenir les teneurs

en Cet N organique ainsi que le rapport C/N. La biomasse microbienne a été déterminée par la méthode de fumigation-extraction (Vance et al., 1985).

Les effets respectifs de la profondeur et du système de culture sur les teneurs en C et N, le rapport C/N et la biomasse microbienne ont été analysés par des analyses de variance (ANOVA) à deux facteurs (la profondeur et le système de culture), en utilisant la version 2.14.0 du logiciel R (R Development Core Team, 2009. R: a language and environment for statistical computing. Available: <http://www.Rproject.org>).

2.2.2. Densité apparente

Afin de réaliser des mesures de densité apparente sur 0-10 cm de profondeur, trois prélèvements dans chaque système de culture ont été effectués. Un cylindre métallique de 10 cm de hauteur et de volume connu a été enfoncé à l'aide d'une masse dans le sol, puis a été extrait de façon à prélever la totalité de son contenu. De retour au laboratoire les prélèvements correspondant aux contenus des cylindres ont été séchés à 105°C puis pesés et rapportés au volume du cylindre d'extraction, et ce pour obtenir la densité apparente en g. cm⁻³. Une ANOVA à un facteur (le système de culture) a été réalisée pour tester l'effet du système de culture sur la densité apparente avec le logiciel R (version 2.14.0).

2.2.3. Analyses des acides gras phospholipidiques (PLFA)

Trois prélèvements sur 0-10 cm dans chaque système de culture ont été réalisés en vue des analyses « biologiques ». Pour l'analyse des acides gras phospholipidiques le sol a été préalablement tamisé à 5 mm et lyophilisé.

L'analyse des acides gras phospholipidiques a été établie après extraction de 10 g de sol en utilisant la méthode décrite par Frostegård et al. (1993). L'ensemble des lipides contenus dans les membranes cellulaires des microorganismes est extrait par solubilisation et agitation dans un extractant composé de méthanol, chloroforme et tampon citrate. Les phospholipides sont ensuite séparés des neutrolipides et des glycolipides par chromatographie liquide sur colonne de silice (Extract Clean®Silica, Grace). Les phospholipides ainsi récupérés sont dépolymérisés et transméthylés par méthanolyse alcaline. Après la méthylation les acides

gras obtenus sont séparés en utilisant un chromatographe en phase gazeuse de type Hewlett Packard 6890 muni d'un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID). Un standard qualitatif composé d'un mélange d'acides gras méthylés allant du C11:0 au C20:0 (BAME, Sigma-Aldrich) est utilisé pour l'identification des acides gras contenus dans nos échantillons en se basant sur leurs temps de rétention. L'abondance relative de chaque acide gras est utilisée pour comparer la structure des communautés entre échantillons. Les acides gras contribuant à moins de 1% de la totalité du pool d'acides gras ont été enlevés avant l'analyse. La nomenclature standard des acides gras a été utilisée, comme décrite dans Frostegård et al. (1993). Les acides gras mono-insaturés et les cyclopropylés (C16:1w9, C18:1w9c, C18:1w9t, cycC17:0, cycC19:0) correspondent à des marqueurs bactériens Gram- (Zelles, 1999), les acides gras iso- et anteiso- (iC15:0, aC15:0, iC16:0, iC17:0, aC17:0) à des marqueurs bactériens Gram+ (Zelles, 1999) et le C18:2w(9,12) au marqueur fongique (Frostegård et al., 1993; Zelles, 1997). Les acides gras cyclopropylés peuvent aussi correspondre à des marqueurs d'anaérobies (Hill et al., 2000), et les C18:1w9c, C18:1w9t peuvent dans certains sols (par exemple les sols forestiers) correspondre à des marqueurs fongiques (Frostegård et al., 2011). La communauté bactérienne totale est représentée par la somme des marqueurs Gram- et Gram+ ainsi que les acides gras C15:0 et C17:0.

L'effet des différents systèmes de culture sur la structure des communautés microbiennes a été déterminé par des Analyses en Composantes Principales (ACP) en utilisant le package « Vegan : Community Ecology Package » dans la version 2.14.0 du logiciel R.

2.2.4. Incubation, mesures du CO₂ et quantification de la minéralisation du carbone

Pour chacun des trois systèmes de culture, trois carottes de sol ont été prélevées sur 0-10 cm de profondeur. Afin de s'affranchir des différences de teneurs en C observées entre les systèmes de culture de 0 à 6 cm de profondeur, les cylindres de sol utilisés pour l'incubation proviennent de l'épaisseur 6-10 cm. Ces cylindres de 4 cm de hauteur et 4,6 cm de diamètre sont incubés « intacts » c'est-à-dire sans modification de structure.

Les échantillons de sol « intacts » et équilibrés au même potentiel matriciel (-31,5 kPa) après passage en presse de Richards, sont placés dans des bocaux d'un litre, hermétiques

et fermés par des septa permettant les prélèvements de gaz. Dans le but de garder la teneur en eau des échantillons constante pendant l'incubation, 20 ml d'eau milli-Q sont placés au fond des bocaux. Les échantillons sont incubés à 20°C dans l'obscurité pendant 70 jours.

La minéralisation du C organique est évaluée en mesurant la production de CO₂ par les microorganismes du sol. La concentration en CO₂ dans l'atmosphère des bocaux est déterminée aux jours 1, 3, 7, 14, 21, 28 et 70 de l'incubation, par chromatographie en phase gazeuse à l'aide d'un MICROGC (Agilent 3000A, Santa Clara, CA, USA). Après chaque mesure, les bocaux sont ouverts et l'atmosphère y est renouvelée avec de l'air reconstitué, humide et dépourvu de CO₂ (Fig. II.2). A noter qu'au début de l'incubation, l'atmosphère des bocaux était également dépourvue de CO₂. Les différences de minéralisation basale totale entre systèmes de culture en fin d'incubation ont été analysées par une ANOVA à un facteur (le système de culture).



Figure II.2: Bocal d'incubation, dispositif de mesure de la concentration en CO₂ et système de renouvellement d'air.

2.3. Distribution de la matière organique dans des agrégats des différents systèmes de culture

2.3.1. Micro-tomographie à rayons X

En septembre 2011, quatre cylindres de sol ont été prélevés sur l'épaisseur 6-10 cm dans les systèmes conventionnel, biologique et SCV, et en plus de cela quatre cylindres de sol sur l'épaisseur 2-6 cm dans le système SCV. De cette façon, en comparant (i) les deux épaisseurs du système SCV (2-6 et 6-10 cm), (ii) les trois systèmes de culture sur la même

épaisseur et (iii) le système sans labour face aux systèmes labourés, on pourra tester (i) l'effet de la quantité de matière organique, (ii) l'effet de la qualité de la matière organique et (iii) l'effet de la structure du sol sur la géométrie du réseau poral à l'échelle micrométrique. Une fois prélevés les échantillons sont emballés et envoyés à l'Agroecosystems Research Group de l'Université de Sydney.

Trois agrégats d'environ 4 mm de diamètre par cylindre de sol sont prélevés et séchés à l'air avant d'être scannés en micro-tomographie à rayons X (MicroXCT-400, Xradia) à une résolution de 5 μm . Pour l'analyse, l'agrégat de sol est placé sur une platine de rotation entre une source de rayons X et un détecteur fixe. L'échantillon en rotation est alors bombardé par le faisceau de rayons X permettant ainsi d'obtenir des radiographies d'absorption à différents angles de projection. L'utilisation du logiciel Soil Laboratory développé à l'Université de Sydney permet ensuite la reconstruction et le seuillage des données d'absorption binaires (2D) en images tridimensionnelles (3D). L'analyse de ces images tridimensionnelles permet enfin d'obtenir les propriétés géométriques basiques du réseau poral (volume total, porosité total, porosité connectée, surface totale, ...) (Fig. II.3). Une fois scannés, les agrégats ont été renvoyés en France afin d'y être broyés et analysés leur teneur en C organique et la composition de leur matière organique.



Figure II.3: Analyse en micro-tomographie à rayons X et reconstruction tridimensionnelle d'un agrégat de sol.

2.3.2. Mesures du carbone organique total

De la même façon que pour les profils réalisés pour la caractérisation des systèmes de culture, le C organique contenu dans les agrégats scannés a été mesuré en utilisant un analyseur élémentaire de type CHN (CHN NA 1500, Carlo Elba).

2.3.3. Spectroscopie moyen infra-rouge par réflexion diffusive à transformée de Fourier

Afin de caractériser la composition de la MO contenue dans les agrégats de sol provenant des différents systèmes de culture, la technique de spectroscopie moyen infra-rouge (SMIR) a été employée (Nicolet iS10, Smart Diffusive Reflectance, Thermo Scientific). Le rayonnement moyen infra-rouge (c'est-à-dire avec des longueurs d'onde de 400 à 4000 cm^{-1}) est projeté sur l'échantillon, préalablement broyé finement ($< 200 \mu\text{m}$) et réfléchi dans toutes les directions. Une partie du rayonnement est absorbée par l'échantillon et l'autre partie est redirigée vers le détecteur. Du fait du peu de matériel à notre disposition, chaque agrégat a été broyé et mélangé à une poudre de bromure de potassium (KBr) qui est dit « transparent » à la lumière infra rouge, et donc n'affectant pas le signal résultant. L'analyse des données obtenues par spectroscopie moyen infra-rouge a été effectuée par une Analyse en Composantes Principales (ACP) en utilisant la version 2.14.0 du logiciel R.

3. Résultats et Discussion

3.1. Caractérisation du sol sous les trois systèmes de culture

La Figure II.4 montre les profils des teneurs en C et N organiques ainsi que le profil du rapport C/N dans les 3 systèmes de culture étudiés sur 0-40 cm de profondeur. Les teneurs en C et N, le rapport C/N ainsi que la biomasse microbienne diminuent significativement avec la profondeur et varient significativement selon les systèmes de culture (ANOVA, $P < 0,001$). Le système SCV est significativement différent des systèmes labourés (conventionnel et biologique), qui ne sont pas significativement différents entre eux.

Dans les premiers centimètres de profondeur du système SCV les teneurs en C et N organiques sont plus de deux fois supérieures à celles des systèmes conventionnel et biologique. Les systèmes conventionnel et biologique présentent quant à eux des profils de teneurs en C et N similaires. De nombreuses études ont déjà montré cette différence de teneurs en C et N entre systèmes labourés et non labourés sur les premiers centimètres de profondeur qui s'explique par une accumulation en surface de la matière organique (Kandeler et al., 1999; Grandy and Robertson, 2007; Fernández et al., 2010). Cependant dans ces études il est difficile de voir à partir de quelle profondeur les différences disparaissent. Grâce à notre mode d'échantillonnage, il nous a été possible de déterminer que c'est à partir de 6 cm de profondeur que les teneurs en C et N entre les trois systèmes de culture deviennent similaires. Dans leur article comparant la distribution du C organique entre des systèmes labourés et non labourés, Salvo et al. (2010) montrent eux aussi que la profondeur où la différenciation entre les systèmes disparaissait était de 6 cm. Entre 28 et 34 cm de profondeur il est intéressant de noter une légère diminution des teneurs en C et N dans les trois systèmes probablement due à la semelle de labour. Initialement c'est-à-dire avant 1997, l'ensemble du site de La Cage était cultivé selon le système conventionnel, le fait que ce décrochement soit aussi observé dans le système SCV résulterait donc du passif des pratiques antérieures.

La biomasse microbienne dans le sol du système SCV est près de quatre fois supérieure à celles des systèmes travaillés sur les six premiers centimètres de profondeur.

Cookson et al., (2008) a également observé cette différenciation entre système conventionnel et système non labouré pour la biomasse microbienne et ce sur les 10 premiers centimètres de profondeur. Ce résultat est à mettre en relation avec les teneurs en matière organique plus importante en surface. D'autres travaux comparant le système conventionnel au système biologique ont montré une biomasse microbienne significativement supérieure dans le système biologique (Marinari et al., 2006; Tu et al., 2006). Dans notre étude nous n'avons pas obtenu de telles différences entre ces deux systèmes, cependant il ne faut pas perdre de vue qu'il existe une multitude de systèmes de culture biologiques et que comparer leurs effets peut être un exercice périlleux.

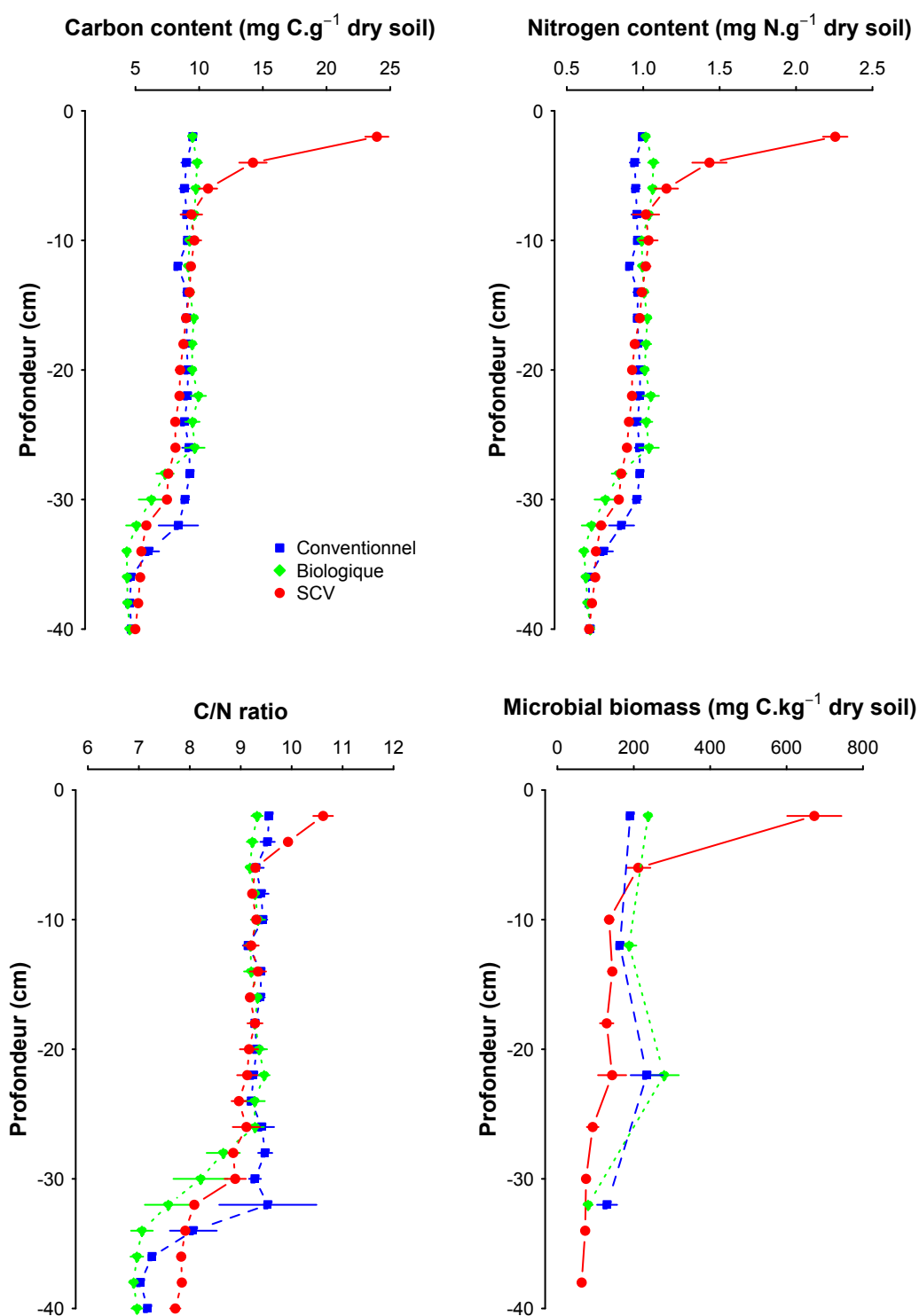


Figure II.4: Profils des teneurs en carbone et azote organiques, du rapport C/N et de la biomasse microbienne des sols sous les différents systèmes de culture. En bleu le système conventionnel, en vert le système biologique et en rouge le système SCV. Les barres d'erreur correspondent aux erreurs standards (n=3).

La densité apparente dans le système SCV est significativement plus élevée que celles des systèmes de culture conventionnel et biologique (ANOVA, $P < 0,05$) (Fig. II.5). Elle n'est toutefois pas significativement différente entre les systèmes de culture conventionnel et biologique. La différence significative entre système SCV et les systèmes labourés peut s'expliquer par le fait de l'absence de travail du sol dans le système SCV et donc un plus grand tassement du sol (Rahman et al., 2008). D'autres travaux n'ont quant à eux pas montré une telle différence que ce soit sur 5 ou 18 cm de profondeur (Puget and Lal, 2005; Grandy and Robertson, 2007; Fernández et al., 2010). Ces différences entre études peuvent s'expliquer par le fait que les plantes de couverture, les précédents culturaux, les propriétés du sol, les conditions climatiques mais également les périodes de prélèvement soient différentes. Il est évident qu'après un épisode de labour, les différences entre les systèmes labourés et le SCV seront nettement plus importantes qu'après une récolte.

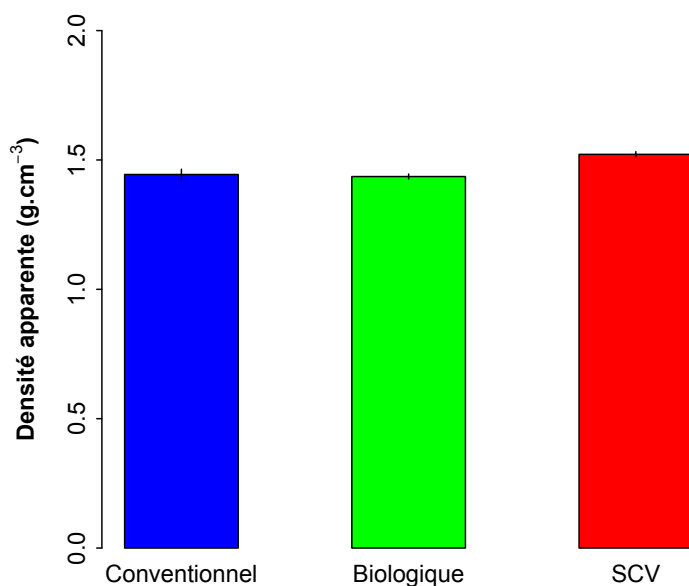


Figure II.5: Densité apparente sur 0-10 cm de profondeur des différents systèmes de culture. En bleu le système conventionnel, en vert le système biologique et en rouge le système SCV. Les barres d'erreur correspondent aux erreurs standards (n=3).

La structure des communautés microbiennes du système SCV est significativement différente de celles des systèmes conventionnel et biologique, et ce selon l'axe 1 de l'ACP (ANOVA, $P < 0,01$) (Fig. II.6). Aucune différence significative n'a été observée selon l'axe 2 de l'ACP, c'est-à-dire entre les systèmes de culture conventionnel et biologique. Les acides gras responsables de la différence significative selon l'axe 1 de l'ACP sont le marqueur fongique C18 :2w(9,12) et les C18 :1w9 cis- et trans- pouvant également correspondre à des marqueurs fongiques. Bien que nos résultats ne soient pas quantitatifs, une étude réalisée sur les sols des mêmes systèmes de culture a observé une biomasse fongique significativement

plus abondante pour le sol du système SCV (Henneron et al., Submitted). Dans leurs études respectives, Acosta-Martínez et al. (2007) et Rahman et al. (2008) ont également observé une abondance relative des biomarqueurs fongiques supérieure dans les systèmes sans labour. L'absence de labour semble donc favoriser le développement fongique. Ces résultats sont en accord avec ceux de la littérature, et en particulier ceux de Frey et al. (1999) où l'abondance d'hyphes sur 0-5 cm est nettement supérieure dans le système non labouré comparé au conventionnel.

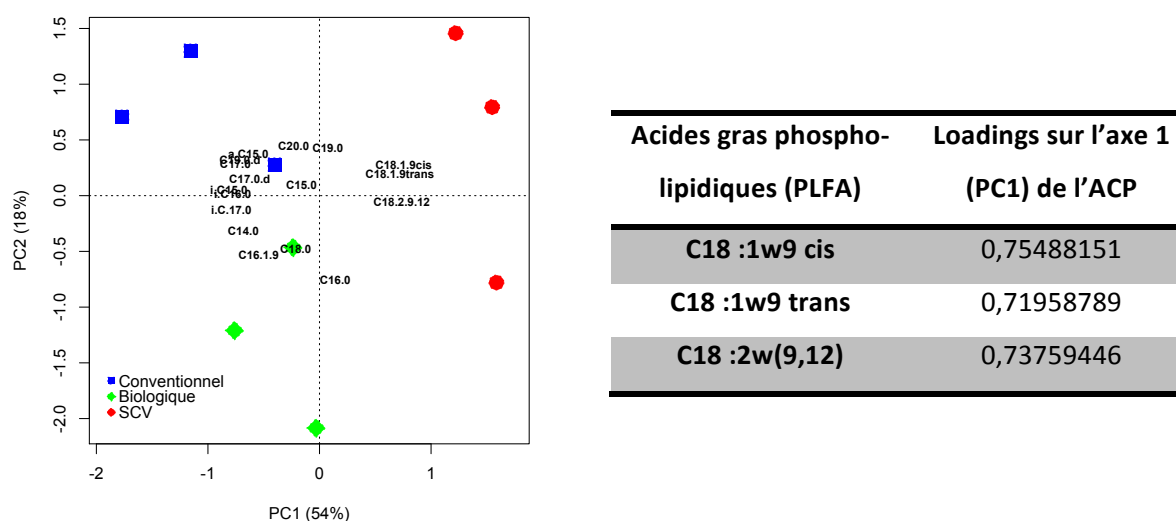


Figure II.6: Analyse en Composantes Principales (ACP) des profils des acides gras phospholipidiques (PLFA) extraits du sol sous les différents systèmes de culture, et loadings des acides gras responsables de la différenciation. En bleu le système conventionnel, en vert le système biologique et en rouge le système SCV.

Après 70 jours d'incubation, la minéralisation cumulée du C est significativement différente entre les différents systèmes de culture (ANOVA, $P < 0,01$) (Fig. II.7). La minéralisation cumulée en fin d'incubation varie entre les systèmes selon l'ordre : SCV < Conventionnel < Biologique. Pour rappel, la quantité de C organique sur l'épaisseur considérée (6-10 cm) est de 10 mg C. g⁻¹ sol sec, et cela dans chacun des sols des trois systèmes. Même si la différence de minéralisation observée ici entre les systèmes de culture conventionnel et biologique n'est pas significative, on est amené à se demander si une plus grande diversité microbienne dans le sol du système biologique aurait un rôle dans la minéralisation du C. En effet, il a été démontré que l'absence de pesticides et de fertilisants de synthèse caractérisant les systèmes biologiques pouvait améliorer la diversité du sol (Edwards, 2002; Mäder et al., 2002). Dans le système SCV, la minéralisation cumulée est significativement plus faible que celles des systèmes de culture conventionnel et biologique

($P < 0,01$). Dans l'étude de Fernández et al. (2010), la minéralisation du C dans le sol du système non labouré est quant à elle supérieure à celle du C du sol du système conventionnel. Cependant ce résultat est à prendre avec précaution puisque les valeurs de minéralisation ne sont pas rapportées aux teneurs en C respectives des sols sous les deux systèmes, et donc exprimées en mg C.kg^{-1} de sol. En exprimant les données en mg C.g^{-1} de C du sol, on obtient une minéralisation du C plus faible dans le système SCV que dans le système conventionnel et donc en accord avec nos résultats. Une étude de De Neve et Hofman (2000) mettant en lien la minéralisation des MOS dans des échantillons où le degré de compaction varie est en accord avec nos résultats. En effet, cette étude montre l'influence négative de la compaction sur la minéralisation des MOS, en particulier du carbone organique. Dans notre étude, le sol du système SCV sur 0-10 cm est le plus compact et celui où la minéralisation du C est moindre. Nous faisons l'hypothèse que la minéralisation est ralentie du fait d'une aération moindre dans les cylindres du sol sous SCV ou du fait d'une accessibilité moindre des MO aux microorganismes. L'incorporation des résidus de culture via le labour pourrait favoriser la décomposition de la MO en fournissant des conditions favorables de température et d'humidité aux décomposeurs microbiens (Rahman et al., 2008). De plus cette incorporation pourrait, en augmentant le contact entre sol et résidus, favoriser la colonisation microbienne des résidus et permettre une meilleure fourniture d'azote.

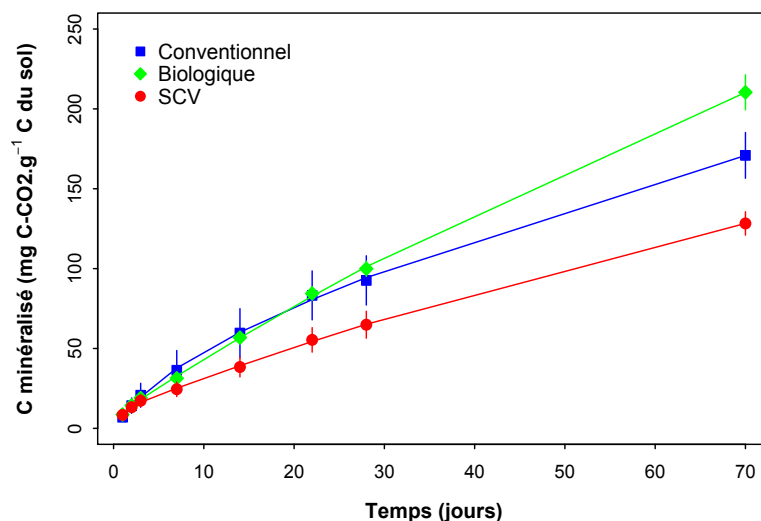


Figure II.7: Minéralisation basale du carbone dans les différents systèmes de culture. En bleu le système conventionnel, en vert le système biologique et en rouge le système SCV. Les barres d'erreur correspondent aux erreurs standards ($n=3$).

3.2. Distribution de la matière organique à l'échelle de l'agrégat

Des sections en deux dimensions obtenues après analyse en micro-tomographie à rayons X de certains agrégats provenant des différents systèmes de culture sont représentées en figure II.8. Une appréciation visuelle semble indiquer que les agrégats des systèmes SCV (aux deux profondeurs) ont une plus grande porosité que ceux des systèmes labourés. Les résultats de densité apparente présentés dans la partie 3.1 de ce chapitre, montrent que le labour est associé à une plus grande porosité à l'échelle décimétrique, alors que ces observations suggèrent une réduction de la porosité intra agrégat.

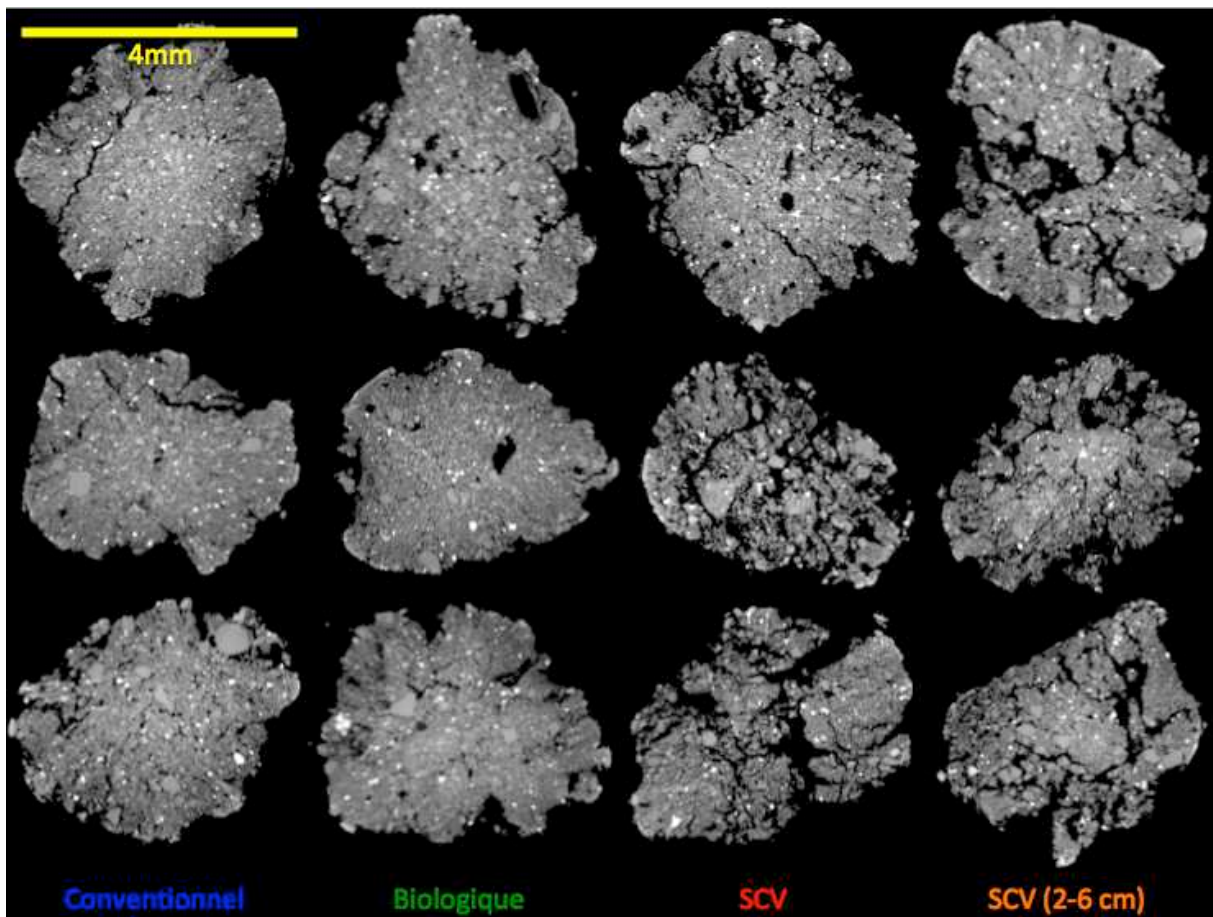


Figure II.8: Images obtenues après analyse en micro- tomographie à rayons X d'agrégats provenant des différents systèmes de culture à une résolution de 5 µm.

Pour tester si une relation existait entre réseau poral et MO, nous avons décidé de mettre en relation une variable descriptive du réseau poral : la porosité totale, et la teneur en C

organique (Fig. II.9). La figure II.9 montre l'existence d'une relation entre porosité totale et teneur en C organique pour les agrégats du systèmes biologique ($r^2 = 0,51$). Pour les agrégats du système conventionnel, même si aucune relation n'a été observée, la tendance est la même que pour les agrégats du système biologique. En effet, dans ces deux systèmes il semblerait que plus la porosité augmente plus la teneur en C augmente. En ce qui concerne le système SCV, aucune relation entre porosité et teneur en C n'a pu être observée et ce quelque soit la profondeur d'échantillonnage. Dans les agrégats du système SCV la porosité et la teneur en C sont très variables à la différence des agrégats des systèmes labourés.

En l'absence de labour, la ségrégation spatiale de la MO pourrait être plus importante ce qui entraînerait une accumulation de C organique à des endroits inaccessibles aux décomposeurs microbiens. Cette hypothèse est renforcée par le fait qu'il a été observé une telle variabilité dans la fonction de minéralisation du C dans des agrégats du sol de ce même système non labouré (Sauvadet, 2012).

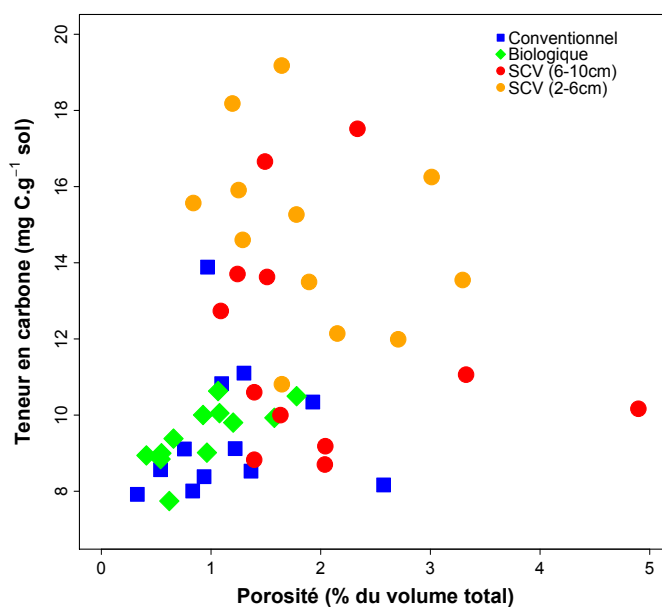


Figure II.9: Relation entre teneur en carbone organique et porosité totale pour les agrégats provenant des différents systèmes. En bleu le système conventionnel sur 6-10 cm, en vert le système biologique sur 6-10 cm, en rouge le système SCV sur 6-10 cm et en orange le système SCV sur 2-6 cm.

La composition de la MO contenue dans les agrégats des différents systèmes et obtenue par analyse en spectroscopie moyen infra rouge est représentée en figure II.10. Les systèmes de culture n'ont pas d'effet significatif sur la composition des MO des agrégats. Cependant, de même que pour la relation entre porosité et teneur en C, la composition des MO contenues dans les agrégats du système non labouré (SCV) est beaucoup plus variable que celle des MO contenues dans les agrégats des systèmes labourés (conventionnel et biologique). Du fait de l'absence de labour l'incorporation de la MO dans les agrégats du

système SCV, provenant d'une part de la plante cultivée et d'autre part de la plante de couverture, est vraisemblablement très hétérogène.

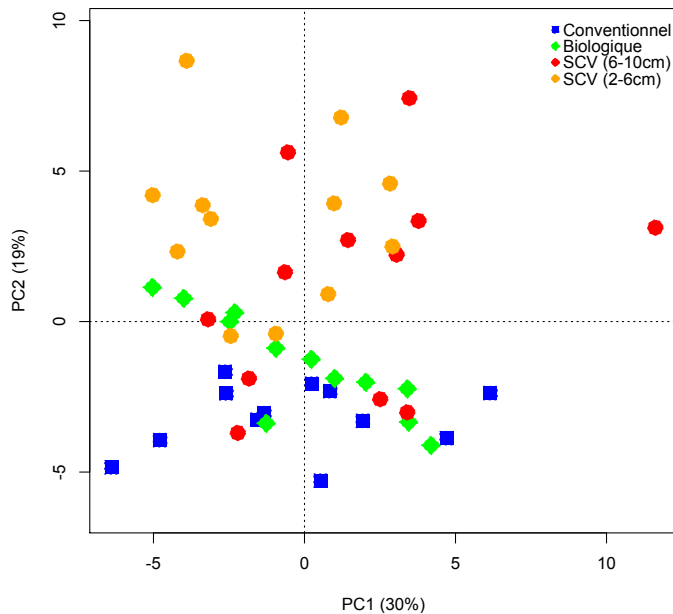


Figure II.10: Analyse en Composante Principale (ACP) de la composition des matières organiques obtenue par spectroscopie moyen infra-rouge (MIRS) dans les agrégats provenant des différents systèmes. En bleu le système conventionnel sur 6-10 cm, en vert le système biologique sur 6-10 cm, en rouge le système SCV sur 6-10 cm et en orange le système SCV sur 2-6 cm.

Dans les sols labourés avec absence de plante de couverture, il existe donc une relation à l'échelle de l'agrégat entre porosité, teneur en C et composition des MO. Il serait donc à présent intéressant de compléter ces données par une analyse des communautés microbiennes à l'échelle de l'agrégat comme l'a déjà fait Davinic et al. (2012). En effet ce dernier a étudié les communautés microbiennes à l'échelle de l'agrégat par pyroséquençage en les associant aux résultats de composition chimique de la MO obtenue par spectroscopie moyen infra rouge.

Cette étude est à notre connaissance une des premières cherchant à mettre en relation des résultats obtenus par des analyses en micro-tomographie à rayons X et des mesures standards (telles que la détermination de la teneur en C ou l'analyse par spectroscopie proche IR), et ce pour un grand nombre d'échantillons. Les informations qui en découlent pourraient être utilisées pour implémenter les modèles déterminant comment la distribution à micro-échelle du C pourrait réguler les dynamiques du C dans les sols.

4. Conclusion

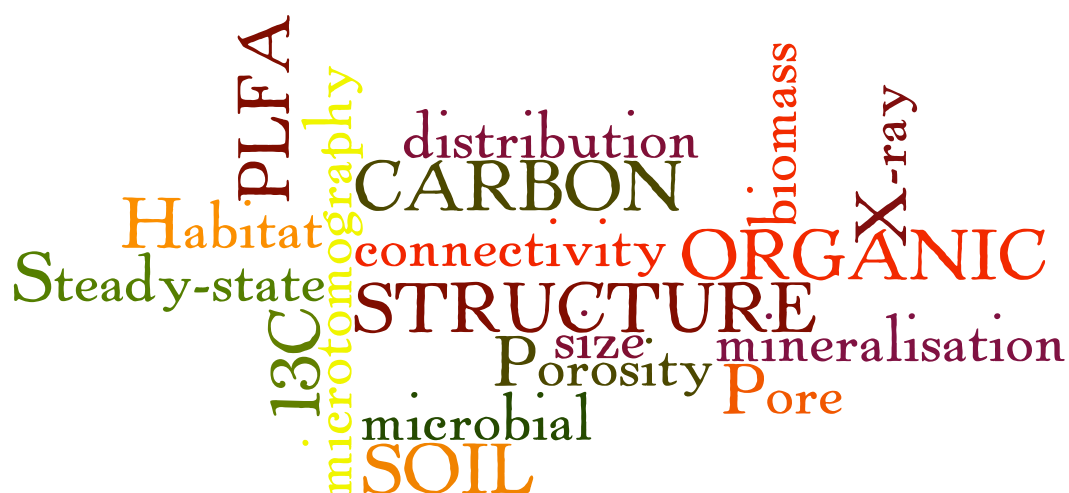
Cette caractérisation nous montre que quelque soit l'échelle d'étude, le système SCV, c'est-à-dire non labouré, se distingue largement des systèmes conventionnel et biologique labourés. En effet, à l'échelle macroscopique, le sol du système non labouré avec une couverture végétale permanente (SCV) a une concentration en MO dans les premiers centimètres, une biomasse microbienne et une densité apparente plus élevées, une structure des communautés microbiennes avec une composante fongique plus importante, et une minéralisation du C plus lente. A l'échelle de l'agrégat, la porosité ainsi que la quantité et la qualité de la MO ont une plus grande variabilité pour le sol du système SCV.

Les pratiques culturales, et plus particulièrement du labour et le semis direct sous couvert végétal permanent, ont des impacts physiques et biologiques sur les sols allant de l'échelle de la parcelle à celle de l'agrégat.

AVANT-PROPOS AU CHAPITRE III

Les résultats du second chapitre concernant la décomposition du carbone d'un sol sous différents systèmes de culture montrent que la structure du sol affecte la minéralisation des matières organiques dans les sols considérés. En effet, le système de culture non labouré et où la densité apparente est la plus élevée, minéralise moins de carbone que les systèmes labourés.

Dans ce chapitre III nous avons donc décidé de tester l'influence de la structure du sol sur la décomposition du carbone organique du sol, et alliant outils physiques et biologiques.



Chapitre III.

Les effets de différentes structures de sol sur la décomposition du carbone organique natif et apporté

*Effects of different soil structures on the decomposition of
native and added organic carbon*

Sabrina Juarez¹, Naoise Nunan², Anne-Claire Duday², Valérie Pouteau³, Sonja Schmidt⁴,
Simona Hapca⁴, Ruth Falconer⁴, Wilfred Otten⁴ and Claire Chenu¹

Laboratoire Biogéochimie et Ecologie des Milieux Continentaux (AgroParisTech¹, CNRS²,
INRA³), UMR 7618, Bâtiment EGER, 78850 Thiverval Grignon, France

⁴SIMBIOS, University Abertay Dundee, Scotland, Dundee, United Kingdom

Accepted for publication in 'European Journal of Soil Biology'

RÉSUMÉ

Les communautés microbiennes vivent dans le réseau poral du sol où leur accès aux substrats organiques, à l'oxygène et à l'eau dépend de la façon dont ce réseau est structuré. Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à la relation entre la structure du sol et la dynamique des MOS, en mesurant les cinétiques de minéralisation dans des échantillons où l'on a fait varier la structure du réseau poral.

Des cylindres de sol avec différentes structures (non perturbée, tamisée et désagrégée par agitation dans l'eau), mais avec la même densité apparente ont été incubés et la minéralisation du C organique natif et apporté (via des substrats marqués au ^{13}C , fructose et vanilline) a été mesurée pendant 127 jours. Afin de se focaliser sur l'effet de la structure obtenue par ces traitements, ce n'est qu'une fois les effets immédiats des perturbations causées par les traitements de structure passés, que l'incubation a débuté. A la fin de l'incubation, la biomasse microbienne et la structure des communautés microbiennes ont été déterminées. Les cinétiques de minéralisation ont été mises en relation avec les paramètres structuraux qui ont été déterminés par micro-tomographie à rayons X.

Les traitements de structure n'ont pas eu d'effet sur la minéralisation du C natif et du C apporté, et cela même si les caractéristiques de la porosité étaient significativement différentes. Cependant, la structure des communautés microbiennes dans les échantillons non perturbés était significativement différente de celles des échantillons dispersés. Ces résultats semblent indiquer que ni l'accès qu'ont des décomposeurs aux substrats organiques, ni les conditions environnementales dans lesquelles a lieu la décomposition, n'ont été affectés par les traitements de structure du sol. Cela suggère que les contrôles de la biodégradation des MO auraient lieu à des échelles spatiales en deçà de celles qui ont été modifiées dans cette étude.

Mots-clés:

Carbone organique du sol; Minéralisation ; Dynamiques du carbone ; Structure du sol ; Etat stationnaire ; Micro-tomographie à rayons X ; Habitat microbien.

ABSTRACT

Soil microbial communities live in the soil pore network and therefore the access they have to organic substrate, oxygen and water depends on how this network is structured. In this experimental study, the relationship between soil structure and SOM dynamics was investigated by measuring the kinetics of organic C decomposition in samples that varied only in the physical structure of the soil pore network.

Soil cores with different structures (undisturbed, sieved and disaggregated by agitation in water), but with the same bulk density, were incubated and the mineralisation of native and added (^{13}C -labelled substrates, fructose and vanillin) organic C was measured for a period of 127 days. The incubation was commenced after the immediate effects of the perturbations caused by the soil structural treatments had dissipated. At the end of the incubation, the microbial biomass and microbial community structure were determined. The respiration kinetics were not related to soil structural parameters, which were determined using X-ray micro-CT.

The structure treatments had no significant effect on the mineralisation of soil or added organic C, despite the significantly different physical environments. However, the microbial community structures of the undisturbed and dispersed samples were significantly different. These results indicate that neither decomposer access to organic substrate nor the environmental conditions in which decomposition occurred were impaired by the soil structure treatments and suggest that the controls on C dynamics may take place at scales below those that were manipulated in this experiment.

Keywords:

Soil Organic Carbon; Mineralisation; Carbon dynamics; Soil Structure; Steady state; X-ray micro-Computed Tomography; Microbial habitat.

1. Introduction

In order to better understand how soil C dynamics are affected by environmental changes and by the evolution of cropping systems, it is necessary to identify the mechanisms that regulate SOM decomposition. A number of regulatory mechanisms have been postulated (e.g. Six et al., 2002): (i) the intrinsic recalcitrance of OM, (ii) differential microbial activity related to microbial community structure or to local environmental conditions, and (iii) processes related to the physical and chemical properties of the soil matrix (i.e., physical protection, protection by adsorption). However, it has recently been suggested that the decomposer access to organic substrate is the primary regulatory mechanism governing OM turnover (Dungait et al., 2012).

Soil structure is a three-dimensional arrangement of solid particles and voids, that results in a complex pore network in which microbial communities reside. The pore network is believed to regulate microbial access to organic substrate (Ladd et al., 1996; Chenu et al., 2001; Ritz et al., 2004; Yoo et al., 2006) as well as fluxes of water, oxygen, nutrients and enzymes (Sexstone et al., 1985; Prove et al., 1990; Linquist et al., 1997; Wang et al., 2001). The complex nature of the pore network results in a heterogeneous distribution of water and air that varies as function of the matric potential of the soil. As bacteria are most active at the air-water interface (Strong et al., 2004) and fungal spread, through hyphal extension, tends to occur in air-filled porosity (Harris et al., 2003), the matric potential determines, in part, the extent and location of microbial activity in soil. Therefore the maximum equivalent pore neck diameter and connectivity of water-filled pore space, as well as the location of soil organic matter (SOM) in the pore network will influence SOM decomposition rates. In the literature, many studies have suggested that the structure of soil regulates C dynamics. Franzluebbers and Arshad demonstrated that C mineralisation was higher in large aggregates (> 0.25 mm) and suggested that this was because OM was more physically protected in small aggregates (< 0.25 mm). Similarly, Puget et al. (1995), using a fractionation method, showed that C turnover was slowest in micro-aggregates. In a review of the effect of tillage practices on C dynamics, Balesdent et al. (2000) concluded that disruption of soil structure through tillage increases C mineralisation. It has also been demonstrated that the disruption of soil structure, either by sieving (e.g. Tisdall and Oades, 1982; Hassink, 1992; Balesdent et al., 2000; Salomé

et al., 2010; Thomson et al., 2010) or drying and wetting treatments (Adu and Oades, 1978; Lamparter et al., 2009) induces an increase of C mineralisation. These results show that the disruption of the physical structure of soil, at various scales, induces an immediate flush of C mineralisation either because it releases organic compounds making them available to microorganisms, or because O₂ availability is increased. What is not clear however, is the extent to which the physical structure of soil controls C dynamics in soils not subjected to perturbations such as physical disruption or dry-wet cycles. In soils with different physical structures the spatial distribution of water-filled pores, and therefore of sites of microbial activity, is likely to be different. It is reasonable to expect therefore, that C mineralisation would be affected by different physical structures too.

The physical environment that is involved in the protection of organic matter in soils can now be characterised with X-ray micro-Computed Tomography (X-ray micro-CT) (Nunan et al., 2006; Baveye et al., 2010). X-ray micro-CT can reveal the internal pore geometry of undisturbed soil samples or aggregates (Peth et al., 2008; Baveye et al., 2011). In addition to more readily obtainable bulk measures such as pore volume and pore size distributions, various quantitative measures can be obtained from the pore geometry including connectivity of pore networks (Perez-Reche et al., 2012), connectivity of macro-pores (Luo et al., 2010) and pore-solid surface area (Falconer et al., 2012). This has been used to reveal how soil structure is affected by soil biota (Feeney et al., 2006), and soil management (Kravchenko et al., 2011) and how this relates to fungal growth dynamics (Pajor et al., 2010), water distribution and microbial interactions (Falconer et al., 2012) as well as greenhouse gas emission (Lubbers et al., 2011). In this study X-ray micro-CT was used to quantify how the pore geometry, as quantified by pore volume, connectivity and pore-solid surface area, was affected by different physical treatments of soil samples in order to determine how pore network properties were related to microbial mineralisation of organic C.

The objective of the present study is to determine whether different soil structures affected C mineralisation when conditions were constant (i.e. soil physical structure and moisture content did not vary over time). This was achieved by creating microcosms in which the structure of a sandy loam soil was altered, and by measuring C mineralisation rates once the effects of the perturbation (sampling and alteration of structure) had passed. Two different soluble substrates (fructose and vanillin) with different chemical complexities were added in

order to determine whether the alterations in soil structure affected the mineralisation of soluble compounds. The effects of the treatments on the pore networks of the samples were then quantified using X-ray micro-CT. The variables describing the pore networks were related to the mineralisation rates measured during an incubation that lasted 4 months. We hypothesised that the treatments changed the connectivity of the pore volume and the pore-solid interface area. It was also hypothesised that these changes in soil structure would affect the continuity and tortuosity of water filled paths and therefore the length of diffusion pathways between substrate and decomposer. Finally, it was hypothesised that structural changes would affect the continuity and tortuosity of air filled paths and so the colonisation of soil by fungi and their access to SOM and the diffusion of O_2 and CO_2 .

2. Materials and Methods

2.1. Soil sampling

In the spring of 2010, undisturbed soil cores (5cm diameter) were sampled from the surface 15 cm of the conventional cropping system in the “La Cage” long-term trial at the INRA research centre of Versailles (France) and stored at 4°C until use. The plots sampled were set to wheat at the time of sampling. Organic C and total N contents at a depth of 6-10 cm (the depth from which the samples were taken for the incubation) were 9.3 ± 0.7 and 1.0 ± 0.07 mg g⁻¹ dried soil, respectively. The soil is classified as Eutric Cambisol (FAO; 17% clay, 56% silt and 27% sand) with a pH (water: soil = 1) of 7.4 and a CEC of 11.5 cmol kg⁻¹.

2.2. Preparation of soil cores

After sampling, undisturbed soil subsamples were excised from the field cores at a depth equivalent to 6-10 cm. The excised samples were used to prepare the different structure treatments. A third of the samples was left intact and was used for the “undisturbed structure” treatment. A second third of the samples was sieved to < 5 mm. This treatment was called the “sieved structure” treatment. The final third of the samples was disaggregated by agitation in water with glass beads, according to the protocol proposed by Balesdent et al. (1998). This ensured the disruption of all aggregates > 50 µm. The soil suspension was then air-dried and sieved to < 5 mm into artificial aggregates. This final treatment was named the “dispersed structure” treatment. The soil in both disturbed treatments was compacted with a hydraulic press to obtain the same bulk density as that of the undisturbed treatment (1.4 g cm⁻³). To ensure that there was no gradient in bulk density, the soil was packed in layers. In total, 17 samples were prepared for each physical structure treatment. Nine per treatment were used for the preparation of the microcosms as described below, three to establish the matric potential curves and five for X-ray micro-CT analysis.

In the literature it is commonly observed that soil structure perturbations (by grinding, sieving or through drying and wetting treatments) induces an immediate flush of C

mineralisation. The increased C mineralisation rate generally lasts for a few days up to a maximum of 4 weeks (Gregorich et al., 1989; Hassink, 1992; Franzluebbers and Arshad, 1997; Franzluebbers, 1999; Franzluebbers et al., 2000; Stenger et al., 2002). In order to exclude the C mineralisation flush from the incubation, the treated samples were pre-incubated for two months at 20 °C and -31.5 kPa.

2.3. Addition of two ^{13}C -labelled substrates (fructose and vanillin) and incubation

In order to determine how the different soil structures affected the mineralisation of soluble substrate, the mineralisation of two different soluble, uniformly ^{13}C -labelled substrates (fructose and vanillin – Cambridge Isotope Laboratories, USA) was monitored. ^{13}C -labelled substrates were used in order to differentiate the mineralisation of the added substrate from that of native soil organic C.

After the two month pre-incubation, samples were amended with a solution of either ^{13}C -labelled fructose or ^{13}C -labelled vanillin at a concentration equivalent to 15 mg substrate C g^{-1} soil C. To determine the $\delta^{13}\text{C}$ of the added solutions ($\delta^{13}\text{C}$ fructose = 1722‰ and $\delta^{13}\text{C}$ vanillin = 1272‰), they were previously lyophilised and then analysed with an elemental analyser (EA) coupled to an isotopic ratio mass spectrometer (IRMS) (Annexe A). The substrate solutions (2.4 mL) were applied to the surface of the samples using a multi-channel pipette. This ensured an even distribution of solution across the samples. Unlike the native soil organic matter, the added soluble substrates were located in specific pore sizes in the pore network of the samples: the substrate solutions (or water in the case of the control samples) were added in order to bring the matric potential of the samples to -31.5 kPa, meaning that the substrates were located in pores with a maximal pore-neck diameter of 9.5 μm (the Jurin-Laplace equation). As the pre-incubation was also carried out at -31.5 kPa, the samples were dried slightly prior to the substrate addition by leaving the flasks open for several hours. Fructose and vanillin were chosen because they are soluble, but differ in their chemical complexity, one being a sugar and the other an aromatic aldehyde. This allowed us to determine whether there was any interaction between the mineralisation of different types of organic C and changes in soil structure. In order to verify the depth to which the substrates

penetrated into the samples, at the end of the incubation depth profiles for ^{13}C were established by measuring the ^{13}C signature at 1 cm depth increments.

Immediately after amendment the samples were placed on sample holders in 1 L air-tight jars with spring-lock catches. The jars were sealed with rubber gaskets and a glass lid fitted with a septum for headspace sampling. The jars had a wide opening to enable the incubation of undisturbed cores. In order to keep the soil moisture levels constant during the incubation, 20 mL water was placed at the bottom of each jar. The samples were incubated at 20°C in the dark for 127 days.

2.4. Measurements of CO_2 concentration, $\delta^{13}\text{C}$ and quantification of organic matter mineralisation

Organic C mineralisation was monitored by measuring CO_2 concentration in the microcosms' headspaces on days 1, 3, 7, 14, 21, 28, 49, 70, 91 and 127 of the incubation. The CO_2 concentration (ppm) was determined by gas chromatography with a MICROGC (Agilent 3000A, Santa Clara, CA, USA). The $\delta^{13}\text{C}$ of the headspace CO_2 was measured using an automatic unit that combined a gas chromatograph 5890 GC (Hewlett-Packard, Palo Alto, California, USA) coupled to an isotope ratio mass spectrometer (IRMS) (Isochrome III, Micromass-GVI Optima) equipped with a 3 m column filled with a Poropak QS stationary phase (80-100 mesh) (Annexe B). After each measurement, all jars were opened and flushed with reconstituted and moistened CO_2 -free air. At the beginning of the incubation the jars' atmosphere was CO_2 -free.

SOC mineralisation in samples that had received labelled substrate (fructose or vanillin) was calculated using the following equation:

$$\text{SOC mineralisation} = \alpha \times Q_{\text{sample}} \quad (1)$$

where $\alpha = (A_{\text{fructose or vanillin}} - A_{\text{sample}}) / (A_{\text{fructose or vanillin}} - A_{\text{control}})$, Q is the amount of CO_2 in the flask's atmosphere in $\text{mg CO}_2\text{-C kg}^{-1}$ dried soil and $A_{\text{fructose or vanillin}}$, A_{sample} and A_{control} represent the isotopic abundance of fructose or vanillin, of CO_2 in the sample headspace and of CO_2 in headspace of control samples (i.e. samples to which water was added rather than labelled substrate), respectively. The mineralisation of labelled substrate was calculated using the following equation:

$$\text{Fructose or vanillin mineralisation} = (1-\alpha) \times Q_{\text{sample}} \quad (2).$$

2.5. Microbial biomass and phospholipid fatty acids analysis (PLFA)

At the end of the incubation, the microbial biomass in samples was determined by fumigation-extraction (Vance et al., 1987), using the modifications described in Gaillard et al. (1999).

Lipid profiles were established after extraction from 10 g soil using the method described by Frostegård et al. (1993). Phospholipids were separated from neutral- and glycolipids on solid phase extraction columns (Extract Clean®Silica, Grace). After methylation the fatty acid methyl esters (FAME) were identified using the retention time of chromatograms and mass spectral comparison on a Hewlett Packard 6890 gas chromatograph equipped with either a Flame Ionisation Detector (GC-FID) or an Agilent 5973 Electronic Impact (70 eV) quadrupole Mass Spectrometer (GC-MS). A standard qualitative bacterial acid methyl esters mix (Sigma-Aldrich) that ranged from C11:0 to C20:0, was used for the identification of sample FAME based on retention time. The relative abundance of each fatty acid was used to compare the community structure between the samples. All fatty acids contributing less than 1% to the fatty acids pool were removed before analysis. Standard fatty acid nomenclature was used, as described previously in Frostegård et al. (1993). Mono-unsaturated and cyclopropyl fatty acids (C16:1w9, C18:1w9c, C18:1w9t, cycC17:0, cycC19:0) were taken as Gram-negative bacterial biomarkers (Zelles, 1999), iso- and anteiso-fatty acids (iC15:0, aC15:0, iC16:0, iC17:0, aC17:0) as Gram-positive bacterial biomarkers (Zelles, 1999), C18:2w(9,12) as a fungal biomarker (Frostegård et al., 1993; Zelles, 1997). Cyclopropyl fatty acids can also be taken as anaerobes biomarkers (Hill et al., 2000). The total bacterial community was represented by the sum of the Gram-positive and Gram-negative bacterial biomarkers as well as C15:0 and C17:0. Fungi/Bacteria and Gram-positive/Gram-negative ratios were calculated by dividing the respective sums of biomarkers.

2.6. Soil water retention and pore size classes

The moisture retention characteristics of 9 soil samples (3 per structure treatment) were established using pressure plates (Richard's press) in order to determine (i) the matric potential at which the volume of water-filled porosity was similar across treatments, (ii) the effect of the different structural treatments on the pore size distribution and (iii) the volume of pores accessible to microorganisms across the structure treatments. The matric potential at which the volume of water-filled pores was the most similar across treatments was -31.5 kPa (Fig. III.1). The incubation was carried out at this matric potential, indicated by the red dotted line in Figure III.1. The saturation was incomplete in the sieved and undisturbed treatments, probably due to the presence of large pores that were not completely filled with water or trapped air bubbles. As the bulk density was the same in the three physical structure treatments, the total porosity was also the same across structure treatments. Therefore, the water content of the dispersed treatment at saturation was used as the saturation value for all the treatments. This part of the water retention curve in Figure III.1 is greyed to indicate that the values were not all measured directly.

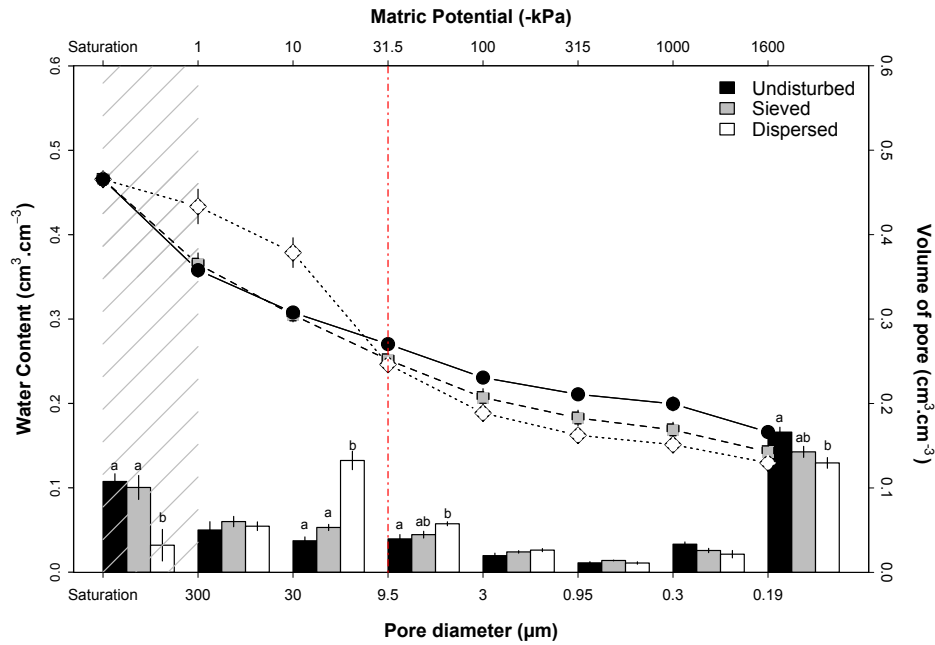


Figure III.1: Matric potential curves and pore volume in each pore size class for undisturbed (black), sieved (grey) and dispersed (white) treatments. The maximum neck diameter of water-filled pores at each matric potential was determined using the Jurin-Laplace equation. The grey surface in the figure corresponds to the part of the moisture retention curve not measured directly in the undisturbed and sieved samples. The vertical red dotted line corresponds to the incubation matric potential. Letters indicate significant differences across structure treatments in each pore size class analysed ($P < 0.05$). Errors bars represent standard error ($n=3$).

2.7. X-ray micro-tomography

In order to explain the structure treatment effects on C mineralisation, X-ray micro-CT was used to identify solid and pore space in the samples. This technology enabled us to quantify pore geometries, providing information on porosity, pore connectivity, specific density of surface area and pore size distribution. The resolution that can be obtained using X-ray micro-CT depends on the sample size. Three different sample sizes (5 cm diameter, 4 cm in height; 1.5 cm in diameter, 2.5 cm in height and aggregates of 1-2 mm) were used for scanning to obtain three resolutions (32 μm , 13 μm and 3 μm) (Table III.1). Five replicates of each treatment and samples size were used for scanning. The soil cores and aggregates were scanned with a Metris X-Tek HMX CT scanner at energies ranging from 90kV to 125 kV and 67 μA to 131 μA , with 3010 projections. A Varian Paxscan 2520 V detector, a 225 kV X-ray source (Nikon Metrology X-Tek Systems Ltd, Tring, UK) and a focal spot of 5 μm were used. The energy of the beam for the three different sample sizes was adjusted to the electron density of the materials. A molybdenum target was used with either a 0.25 mm or 0.5 mm thick aluminium filter to reduce beam hardening. Metris software CT Pro v2.0 was used for reconstruction using a filtered back-projection algorithm. The large soil cores (prepared as described above) were scanned before, subsamples from the centre of these cores were taken using an aluminium cylinder (1.5 cm diameter, 2.5 cm in height). These subsamples were scanned and then left to dry. The dried soil was sieved to aggregate sizes of 1-2 mm. One aggregate of each soil core was scanned.

Table III.1: X-ray micro-CT descriptors.

Sample type	Sample size	Filter	Energy	Current	Voxel size	Analysed volume
	<i>cm</i>	<i>mm</i>	<i>keV</i>	μA	μm	mm^3
Cylinder	$\varnothing (2.5)^2 \times 4$	0.25	125	65-67	32	8.2
Cylinder	$\varnothing (0.75)^2 \times 2.5$	0.5	100	84-108	13	3.3
Aggregates	0.01-0.02	0.5	90	130-131	3	0.8

2.8. Image analysis

2D cross sections (top view) from the 3D volumetric images of soil samples of different sizes were saved as image sequences (slice thickness = voxel size) using VGStudio MAX v2.1 software. These images were cropped to a size of $256 \times 256 \times 256$ voxels. The cropped images were converted to binary images using a fully automated segmentation method. This method determined a thresholding value by minimizing the intra class variance given by the mean square error (MSE) between the greyscale and the corresponding binary image. A pre-classification of the pore and solid populations in addition to the well-established Otsu's technique was included (Otsu, 1979; Hapca, S.M. et al., 2012). Cross sections were selected for visual comparison of soil structure and quantitative measures were obtained at each of the spatial scales for porosity, pore connectivity and the surface area.

2.9. Statistical analyses

Statistical analyses were performed using R version 2.14.0 (R Development Core Team, 2009. R: a language and environment for statistical computing. Available: <http://www.Rproject.org>).

A two-compartments, first-order model (equation 3) was used to describe the mineralisation kinetics of the two added substrates:

$$CO_2 = C_{fast}(1-e^{-\alpha t}) + C_{slow}(1-e^{-\beta t}) \quad (3)$$

where t is time in days, C_{fast} is the pool of substrate C (fructose or vanillin) that was directly mineralised, C_{slow} is the pool of substrate C that was mineralised more slowly and α and β are the associated first-order rate constants. The effect of the various treatments on the mineralisation of fructose and vanillin was verified by ANOVA on the four model parameters. The rate parameters (α and β) were log transformed before ANOVA in order to normalise the data. The use of this model to describe the mineralisation of the added substrates can be justified on the basis that a portion of the substrate C is mineralised directly whilst the remaining substrate C is mineralised only after microbial processing. This means that the molecular form of part of the labelled C was altered before being mineralised. It is also probable that some of the original substrate was mineralised more slowly because it was

located in pores that did not contain degraders and therefore had to diffuse to sites of degradation activity. The model was not used to describe the SOC mineralisation curves as the model did not converge.

Differences in carbon mineralisation during the incubation were also determined by repeated measures analysis of variance of daily mineralisation rates,, with time as within-subject factor and structure and substrate treatments as between-subjects factors. Differences in the fungal to bacterial ratio were analysed by two-way ANOVA (structure x substrate amendment). The impact of the treatments (structure and substrate amendment) on microbial community structure (PLFA) was determined after ordination by Principal Components Analysis (PCA) using the “Vegan: Community Ecology Package” in R.

3. Results

3.1. Soil organic carbon mineralisation

Figure III.2 shows the cumulative and daily mineralisation of SOC in the control samples of the undisturbed, sieved and dispersed treatments. At the end of the incubation, 303.2 mg CO₂-C kg⁻¹ soil was mineralised in undisturbed soil samples, 255.5 mg CO₂-C kg⁻¹ soil in sieved samples and 305.2 mg CO₂-C kg⁻¹ soil in dispersed samples. No significant difference in the SOC mineralisation was observed among treatments. This was true for both the daily rates and the cumulative curve (Fig. III.2).

The undisturbed, sieved and dispersed samples amended with fructose produced 352.8, 269.0 and 291.7 mg CO₂-C kg⁻¹ soil of native SOC during the incubation, respectively (data not shown). Similar amounts of SOC were mineralised in vanillin-amended samples (301.3 mg CO₂-C kg⁻¹ soil, 285.4 mg CO₂-C kg⁻¹ soil and 289.9 mg CO₂-C kg⁻¹ soil in undisturbed, sieved and dispersed samples, respectively). No significant differences in SOC mineralisation rates were observed among soil structure treatments. Furthermore, no significant effect of amendment on cumulative SOM mineralisation was observed (i.e. no cumulative priming effect).

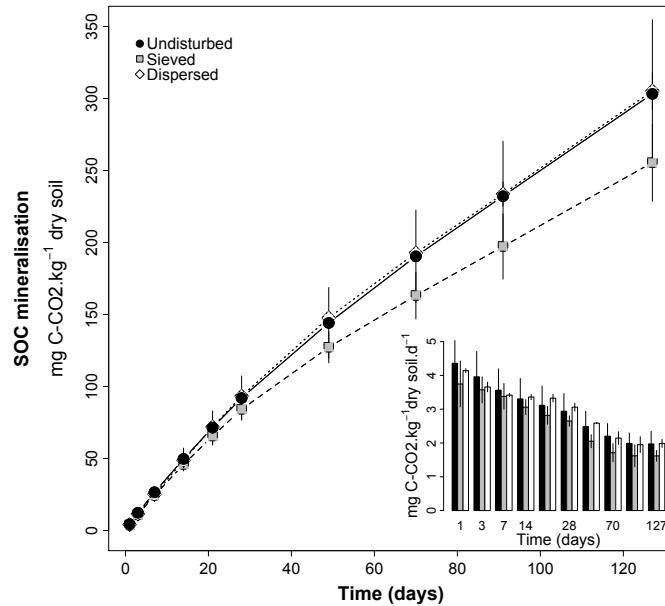


Figure III.2: Cumulative and daily soil organic carbon mineralisation in control treatments for undisturbed (full lines), sieved (dashed lines) and dispersed (dotted lines) treatments. Values are expressed as mg C-CO₂.kg⁻¹ dry soil equivalent and mg C-CO₂.kg⁻¹.day⁻¹ dry soil equivalent, respectively. Error bars represent standard error (n=3).

3.2. Substrate spatial distribution and mineralisation

The extent of spread of the substrates was verified at the end of the incubation by measuring the distribution of isotopic label. Both substrates penetrated to the same depth (2 cm), regardless of physical treatment, indicating that the diffusion of the substrates was not affected by treatments.

Figure III.3 shows the cumulative and daily mineralisation of fructose (a) and vanillin (b) in the undisturbed, sieved and dispersed treatments. In the undisturbed samples, 61% of fructose C and 31% of vanillin C were mineralised during the incubation. In sieved samples, these values were 55% and 30% for fructose and vanillin, respectively; in dispersed samples 56% and 34%. At the end of the incubation, the amount of fructose mineralised was significantly higher than the amount of vanillin for all the structure treatments ($P < 0.001$). The structural treatments only had a significant effect on the daily mineralisation of fructose at the beginning of the incubation ($P < 0.001$) and on the C_{fast} pool rate of fructose mineralisation ($P < 0.05$) (Table III.2). The dispersed samples mineralised significantly less

fructose than the other structural treatments on the first day of incubation and more between days 1 and 3 (Fig. III.3a). The rate of mineralisation of the C_{fast} pool was lower in the dispersed than in the sieved or undisturbed samples (Table III.2), also indicating that the onset of fructose mineralisation was slightly slower in these samples.

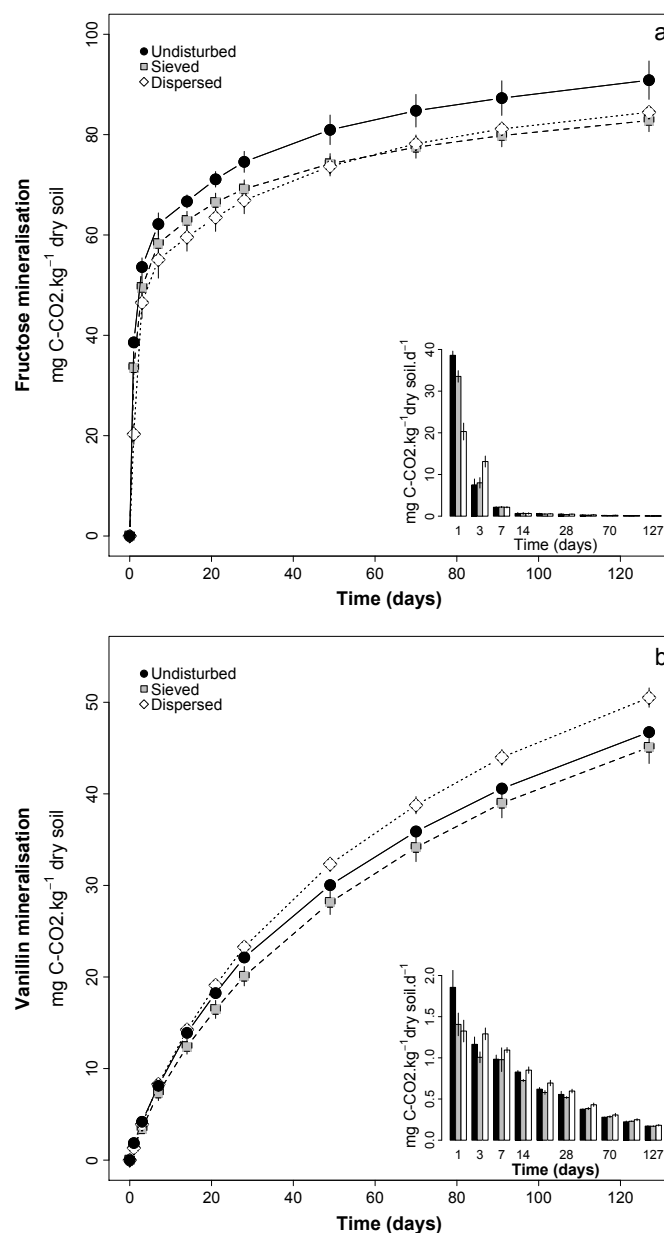


Figure III.3: Cumulative and daily (a) fructose and (b) vanillin mineralisation for undisturbed (full lines), sieved (dashed lines) and dispersed (dotted lines) treatments. Values are expressed as $\text{mg C-CO}_2.\text{kg}^{-1}$ dry soil equivalent and $\text{mg C-CO}_2.\text{kg}^{-1}.\text{day}^{-1}$ dry soil equivalent, respectively. Error bars represent standard error ($n=3$).

Table III.2: Means and standard deviations of the four model parameters for the substrate (fructose and vanillin) and structure (undisturbed, sieved and dispersed) treatments. In each column letters indicate significant differences across structure treatments ($P < 0.05$).

Treatments	Model parameters							
	Substrate							
	Fructose				Vanillin			
	Structure	C_{fast}	C_{slow}	α	β	C_{fast}	C_{slow}	α
Undisturbed	54.22±4.34 ^a	36.72±4.44 ^a	1.19±0.28 ^a	0.030±0.008 ^a	12.16± 6.29 ^a	53.93±9.00 ^a	0.10±0.05 ^a	0.009±0.004 ^a
Sieved	51.97±6.46 ^a	30.80±4.75 ^a	0.99±0.23 ^a	0.028±0.009 ^a	7.35± 0.24 ^a	50.41±2.50 ^a	0.10±0.03 ^a	0.011±0.001 ^a
Dispersed	52.45±7.10 ^a	35.73±6.33 ^a	0.54±0.05 ^b	0.017±0.001 ^a	11.44±6.93 ^a	54.76±4.39 ^a	0.09±0.03 ^a	0.010±0.003 ^a

3.3. Microbial biomass and phospholipid fatty acids (PLFA) profiles

The microbial biomass in sieved samples, regardless of substrate amendment, was significantly higher than in the other structure treatments ($P < 0.001$). No significant effect of substrate addition on the microbial biomass was observed (data not shown).

The ratio C18:2w(9,12) to bacterial PLFA was used as an index of the fungal/bacterial ratio. This ratio was significantly lower in dispersed samples ($P < 0.05$) (Fig. III.4a) even if no difference in fungal or bacterial biomarkers was found. The fungal/bacterial ratio was not significantly affected by the substrate additions.

Microbial community structure at the end of the incubation differed significantly among structure treatments (Fig. III.4b). This was evident along the second principal component axis ($P < 0.01$), which represented 24% of the total variance in the PLFA data. Undisturbed samples were significantly different from the dispersed ones. The difference in community structure between the two treatments was mainly due to higher relative abundances of Gram-positive biomarkers (aC15:0, iC15:0, iC16:0, iC17:0) in the undisturbed samples. The microbial community structure was not affected by the substrate amendment.

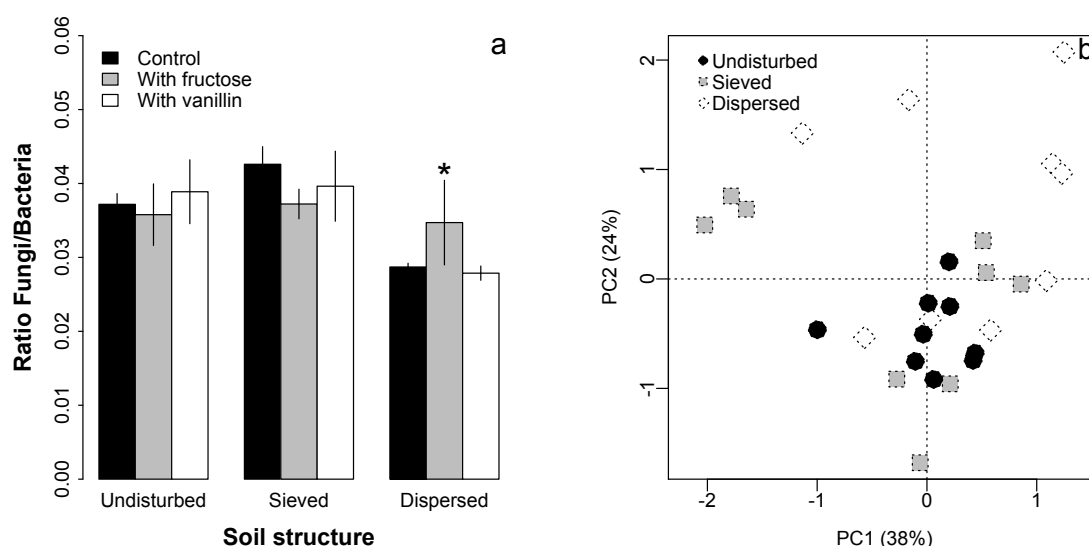


Figure III.4: Fungal to bacterial ratio (a) and Principal Component Analysis (PCA) of phospholipid fatty acids (PLFA) profiles (b) at the end of the incubation for the different soil structures (undisturbed in black, sieved in grey and dispersed in white) in controls, amended with fructose and amended with vanillin samples. Asterisks indicate significant differences across structure treatments ($P < 0.05$). Error bars represent standard error ($n=3$).

3.4. Soil water retention, porosity, connectivity and specific density of surface area

Figure III.1 shows that at the wet end of the water retention curves (matric potentials of -1 and -10 kPa), dispersed samples contained significantly more water than either undisturbed or sieved samples ($P < 0.05$). Significant differences in volume of pore were observed across structure treatments for the pore size classes $> 300 \mu\text{m}$ ($P < 0.001$), $9.5\text{-}30 \mu\text{m}$ ($P < 0.001$), $3\text{-}9.5 \mu\text{m}$ ($P < 0.05$) and $< 0.19 \mu\text{m}$ ($P < 0.05$).

Assuming pores with a neck diameter $< 0.3 \mu\text{m}$ are too narrow for microorganisms to gain access and pores with a neck diameter above $9.5 \mu\text{m}$ are air-filled at the matric potential of incubation, the volume of pores accessible to microorganisms for each of the structure treatment has been estimated (Fig. III.5). The volume of pores accessible to microorganisms was not significantly different among structure treatments. However, the air-filled porosity and the fine sized pores that were inaccessible to microorganisms showed significant differences among treatments (Fig. III.5).

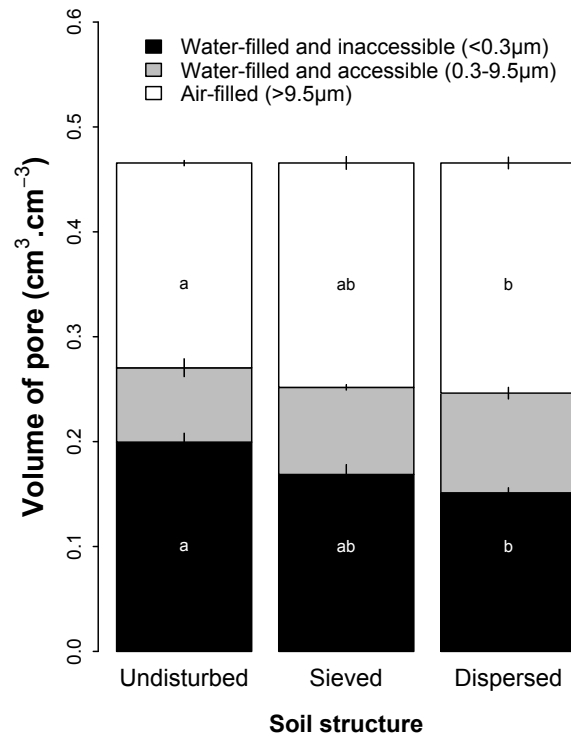


Figure III.5: Air-filled, water-filled and accessible to microorganisms and water-filled but not accessible to microorganisms volumes of pores at the incubation matric potential. Letters indicate significant differences among structure treatments in each pore size class ($P < 0.05$). Errors bars represent standard error ($n=3$).

The micro-CT images confirmed that the treatments had a significant effect on the pore network properties (Fig. III.6). At the lowest resolution, where only pores larger than 32 μm were visible, large connected channels were visible in the image of the undisturbed sample, and clusters of large pore volumes were seen in the sieved sample. However, the dispersed sample did not reveal pores at this scale. In contrast, at the highest resolution, where within aggregate pore space was visible, all treatments look similar in their pore geometry. This was confirmed by an analysis of the pore network properties. Figure III.7 shows porosity (a), connectivity (b) and specific density of surface area (c) in the three treatments at the different resolutions (32 μm , 13 μm and 3 μm). At resolutions of 13 μm and 32 μm , the different soil structure treatments were significantly different in porosity, pore connectivity and surface area ($P < 0,001$) as the dispersed samples showed no detectable porosity (Fig. III.6). These significant effects were still apparent at the resolution of 32 μm when the dispersed samples were removed from the ANOVA ($P < 0.001$). In the images obtained at a resolution of 3 μm , no significant difference among structural treatments was observed for porosity, pore connectivity or surface area.

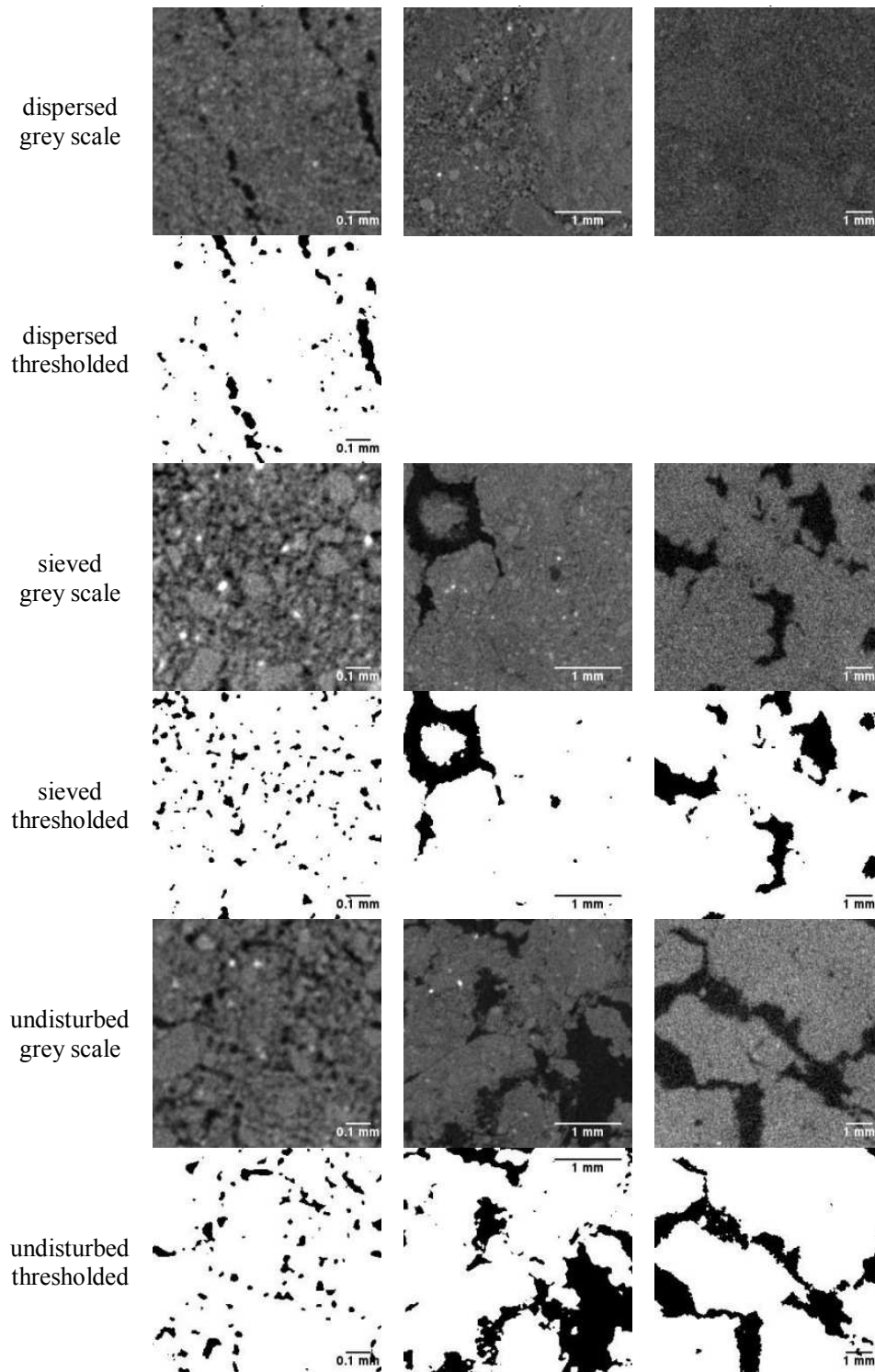


Figure III.6: Examples of grey scale and binarized images of undisturbed, sieved and dispersed soils. The scans were obtained at resolutions (voxel sizes) of 3, 13 and 32 μm . No porosity was detected in the images of dispersed samples at the optical resolutions of 13 and 32 μm .

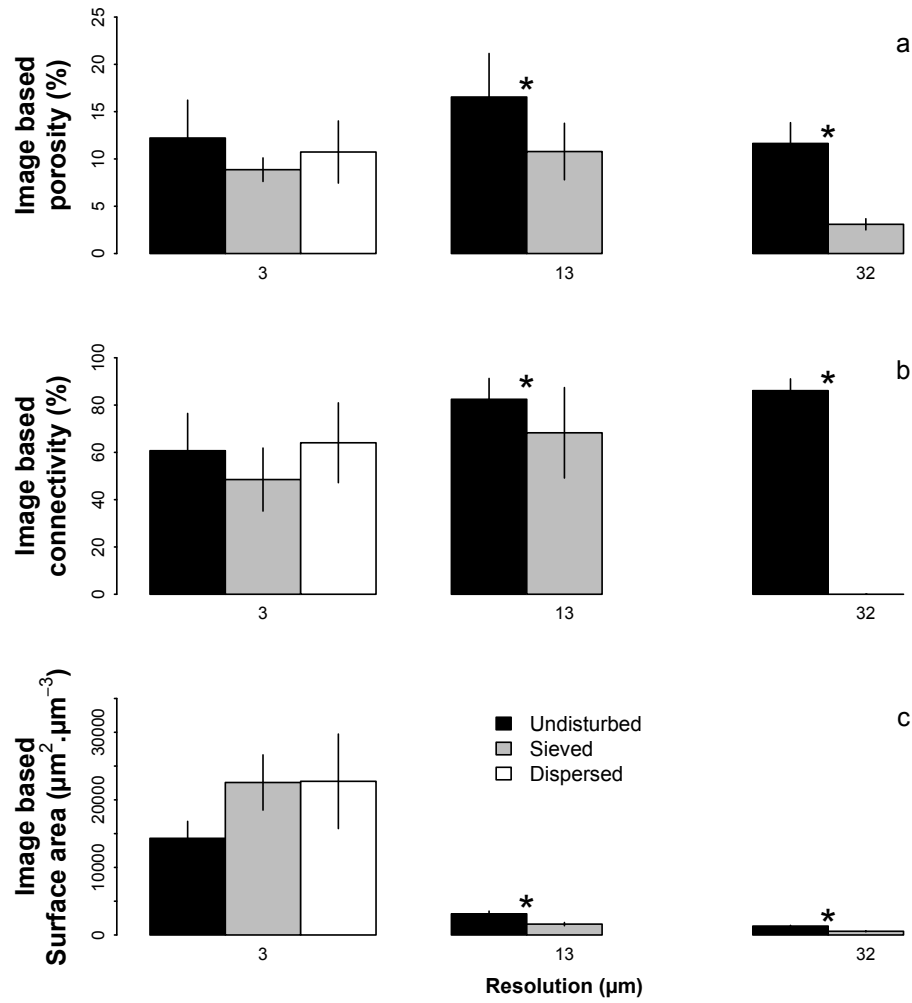


Figure III.7: Image based porosity, pore connectivity and surface area for the undisturbed (black), sieved (grey) and dispersed (white) treatments at resolutions of 3 μm, 13 μm and 32 μm. Porosity and pore connectivity values are expressed in % of the total volume analysed; surface area values are expressed in μm²·μm⁻³ of soil volume. Asterisks indicate significant differences across structure treatments ($P < 0.05$). Errors bars represent standard error (n=5).

4. Discussion

The effect of differences in soil structure and pore network properties (connectivity, pore size class, etc.) on the mineralisation of SOM was investigated because it is now well established that alterations in the physical structure of soil has an immediate impact on microbial activity and in particular on the mineralisation of SOM (e.g. Salomé et al., 2010; Thomson et al., 2010). The flush of mineralisation that occurs after physical perturbation has long been taken as evidence that the physical structure of soil constrains OM dynamics. The constraint is believed to be based on the spatial separation of OM and microbial degraders, as microbial access to organic substrate is limited in the complex network of soil pores (e.g. review in Dungait et al., 2012). It is also presumed that alterations in the physical structure bring previously separated OM and degraders together, thereby reducing the constraint on mineralisation. This scenario suggests that the regulation of C mineralisation is dependent on microbial decomposer access to substrate either via microbial spread and/or diffusion of enzymes towards substrate or of substrate towards decomposers. Therefore, alterations of the diffusion pathways (of substrate to sites of decomposition, metabolites away from sites of decomposition, but also of oxygen to sites of activity) are likely to have more far-reaching effects on microbial activity than merely inducing an immediate flush of activity: a long-lasting effect on steady-state activity might be expected. The importance of diffusion pathways has been identified in both empirical and theoretical studies (Schjonning et al., 2003; Or et al., 2007). In this study it was hypothesised that changes in soil structure would affect the continuity and tortuosity of water filled paths and therefore the length of diffusion pathways between substrate and decomposer. It was also hypothesised that structural changes would affect the continuity and tortuosity of air filled paths and so the colonisation of soil by fungi and their access to SOM.

Although the C mineralisation flush induced by the physical treatments is likely to have resulted in different amounts of mineralisable C in the different treatments at the start of the incubation, with more in the undisturbed samples, this mineralisable C was protected from mineralisation in the samples prior to the physical treatment and it is likely that it remained so in the samples of the undisturbed treatment. It is reasonable therefore, to assume that any differences among treatments were due to the different soil architectures.

4.1. Soil structure changes and mineralisation

The applied treatments clearly resulted in different soil architectures: there was a shift from larger to smaller pores and the extent of the shift was related to the intensity of the physical disruption imposed on the samples. The results show that at the scale of aggregates, the treatments did not have a large effect on the geometry of the pore space. It should be noted however, that even for these smallest samples, a substantial part of the pore volume cannot be detected by X-ray micro-CT (i.e. the pores smaller than the resolution of the scan). Therefore, conclusions can only be drawn about pore sizes and the connectivity of pores with diameters greater than the detection limit. Despite the different physical environments induced by the treatments at the larger scale, with the exception of the initial fructose mineralisation rates, no significant difference in mineralisation rates was observed. These findings corroborate those of Stenger et al. (2002), who did not observe any difference in total C or N mineralisation between intact and sieved/refilled cores during an incubation of 183 days. Their incubation was also preceded by a 4 weeks pre-incubation period.

It may be that only porosity that was not directly accessible to microorganisms was significantly altered by the treatments, as evidenced by the water retention curves (Fig. III.1 and III.5). The lack of a relationship between the pore network properties measured by X-ray micro-CT at the lower resolutions and the C mineralisation kinetics was probably due to the fact that the majority of this pore volume was air-filled. Indeed, microbial decomposition of organic C is generally confined to the water-filled pores (Chenu and Stotsky, 2002; Or et al., 2007) and it is natural therefore that these structural changes would have only a minor effect on decomposition rates.

The data further suggest that the water-filled pore network was sufficiently connected in all treatments for normal rates of mineralisation to be maintained. An alternative explanation for the lack of treatment effects is that any increase in organic C availability as a result of the dispersal and increase in water-filled pore connectivity coincided with a decrease in oxygen availability, the two opposing effects cancelling each other out. This is unlikely however, as the mineralisation of the added substrates was also unaffected by the structure treatments. If anoxic conditions had developed and reduced microbial activity, then the

mineralisation of the substrates would also have been affected, but this was not the case. Furthermore, it has been suggested that the fatty acids cyc17:0, and cyc19:0 are signatures of anaerobes (Hill et al., 2000) and one would have expected an increase in such biomarkers in dispersed samples had anoxic conditions developed, but none were apparent. The slower rate of fructose mineralisation observed at the beginning of the incubation in the dispersed samples was probably because the fructose penetrated into the sample at a slower rate in the dispersed samples due to the lack of large connected pores. The coarse-scale alterations were therefore important for mass transfer by advection.

Fructose mineralisation was always higher than that of vanillin in all physical treatments, probably reflecting substrate complexity and adsorption/desorption (Zhang et al., 2007). Moreover, no priming effect was observed during this experiment, unlike what was observed in the of Guenet et al. (2012). The latter observed an increase in C mineralisation after the addition of fresh organic matter in the same soil. This difference can be explained by the utilisation of soluble and easily degradable substrates in this experiment as opposed to cellulose in Guenet et al. (2012). The addition of fructose or vanillin probably did not provide sufficient energy to stimulate microbial activity and generate SOC mineralisation (Fontaine et al., 2004). Another explanation for the absence of priming effect is that the substrates added did not stimulate fungal growth and their subsequent exploration of the soil architecture for organic C (Salomé et al., 2010). Indeed, no difference in fungal biomarkers was found between control and amended samples.

4.2. Microbial biomass and microbial community structure

Although the structure treatments had no effect on SOC or substrate mineralisation, microbial community structure and microbial biomass were affected, suggesting dissociation between the size of the microbial biomass and C mineralisation rates. Others have mentioned this before (Kemmitt et al., 2008; Paterson, 2009), and suggested that OM mineralisation is regulated by abiotic processes converting non-bioavailable substrates to bioavailable ones. This was termed the “Regulatory Gate” mechanism.

Microbial biomass and microbial community structure were both affected by structure treatment, as has been shown elsewhere (Thomson et al., 2010). The fungal to bacterial PLFA ratio appeared to be lower for the dispersed treatment. The reduction of macro porosity in the dispersed samples may have led to a decrease of fungi, because fungi are rarely found in micro pores (Killham et al., 1993). Hattori (1988) showed that 80-90% of fungi are restricted to larger pores. This is consistent with work by Harris et al. (2003) and Otten et al. (1999) showing preferential fungal exploration through larger and air-filled pores. Moreover, it is known that soil management has an impact on mycelia, so it is reasonable to expect fungal hyphae to be disrupted during the dispersion phase (Young and Ritz, 2000).

5. Conclusion

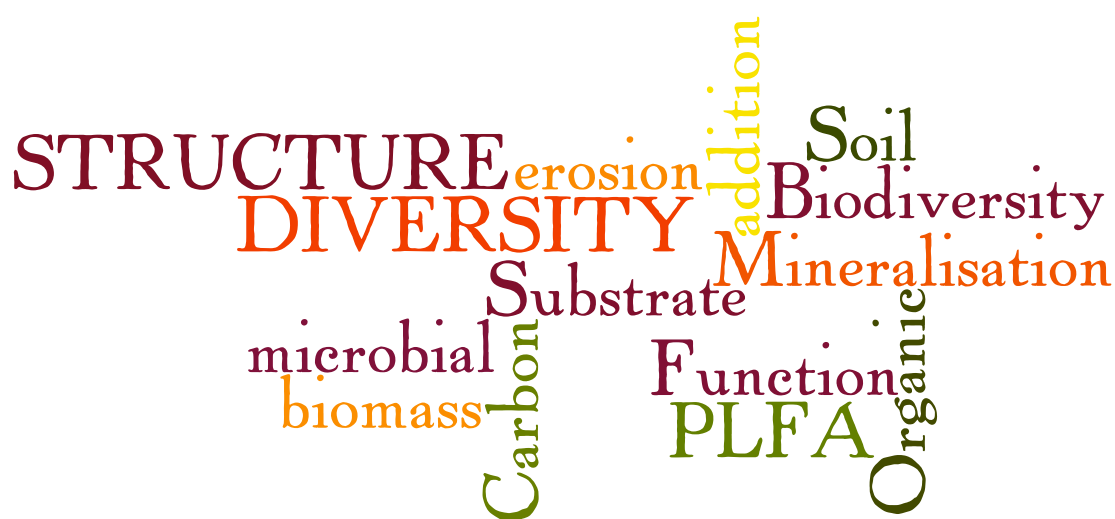
In this study we used different experimental tools (biological, physical) to investigate the role of soil structure in regulating carbon dynamics. The soil structure treatments applied had no effect on either the mineralisation of soil or added OM, despite the different pore geometries for pores larger than 13 μm induced by the treatments. The results suggest that the imposed soil structure changes did not have an impact on the accessibility of microbial decomposers to added substrates or soil organic matter, possibly because the control soil structure has on carbon dynamics takes place at spatial scales below those modified in this experiment ($< 13 \mu\text{m}$). These results may therefore be specific to the treatments and experimental set-up used here and one might expect different results had the incubations been carried out at different matric potentials or using soils with different textures, as this would have resulted in different connectivity of air-filled and water-filled porosity. For example, had the incubation been carried out under wetter conditions in a soil with higher clay content, then anoxia may have developed in the dispersed samples. Had the incubation been carried out under drier conditions then any potential differences in the connectivity of water-filled porosity, not apparent here, may have induced differences in mineralisation rates.

AVANT-PROPOS AU CHAPITRE IV

Dans le précédent chapitre, nous avons vu que les modifications de la structure du sol, n'ont pas eu d'impact sur la minéralisation du carbone organique. En effet, ces altérations de structure ne modifiaient pas l'échelle spatiale à laquelle l'accessibilité des substrats aux microorganismes serait importante, et elles garantissaient dans toutes les situations une aération suffisante du sol.

Dans le chapitre II, une des hypothèses émises pour expliquer les différences de minéralisation entre les systèmes de culture, a été celle d'une plus grande diversité microbienne dans les sols où la minéralisation du carbone était la plus importante.

La question à présent est donc de savoir si la diversité microbienne est réellement une variable importante à prendre en compte dans l'étude de la biodégradation des matières organiques des sols.



Chapitre IV.

Des modifications de diversité microbienne et de structure du sol vont-elles affecter la minéralisation du carbone organique?

*Soil carbon mineralisation responses to alterations of
microbial diversity and soil structure*

Sabrina Juarez¹, Naoise Nunan², Anne-Claire Duday², Valérie Pouteau² and Claire Chenu¹

Laboratoire Biogéochimie et Ecologie des Milieux Continentaux (AgroParisTech¹, CNRS², INRA³), UMR 7618, Bâtiment EGER, 78850 Thiverval Grignon, France

Published in 'Biology and Fertility of Soils'

RÉSUMÉ

Les organismes du sol sont d'une importance fondamentale pour beaucoup de fonctions, telles que la décomposition de la matière organique, le recyclage des nutriments et les flux d'énergie. La plupart des recherches tendent à montrer que les communautés microbiennes des sols sont fonctionnellement redondantes, suggérant qu'il y a peu de relation entre la diversité microbienne et les fonctions des sols. L'activité des communautés microbiennes est connue pour être affectée par l'environnement physique dans lequel elles vivent. Nous avons donc ici étudié les effets de la diversité microbienne et ceux des changements d'environnement physique (par modification de la structure du sol) sur la minéralisation du C organique (C natif et apporté via l'addition de substrat).

Des échantillons de sol, au préalable ayant été soumis à différentes perturbations physiques et stérilisés, ont été inoculés avec une communauté microbienne à différents niveaux de diversité. Une fois inoculés les échantillons ont été incubés pendant 127 jours et la minéralisation du C organique natif et ajouté (fructose et vanilline marqués au C¹³) a été mesurée. Ce travail réside dans l'hypothèse selon laquelle l'ampleur de l'effet des changements dans la structure du sol sur la minéralisation du C pourrait s'accroître lorsque la diversité microbienne diminue.

Le traitement diversité semble avoir un effet significatif sur la minéralisation du C organique natif et sur celle du C apporté par les substrats. La structure du sol quant à elle, n'a un effet significatif que sur la minéralisation du C apporté par les substrats. Aucune interaction entre les traitements diversité et structure du sol n'a été observée, indiquant que la relation entre diversité et décomposition du C organique n'est pas dépendante de l'environnement physique du sol.

Mots-clés:

Diversité microbienne du sol; Structure du sol; Minéralisation du carbone organique du sol; Dynamiques du carbone.

ABSTRACT

Soil organisms are of fundamental importance for many soil functions, such as OM decomposition, nutrient cycling and energy flow. Most of the research suggests that soil microbial communities are functionally redundant, meaning that there is little relationship between microbial diversity and soil functions. However, the activity of biological communities is known to be affected by their physical environment. Here, the effects of changes in microbial diversity and soil structure on organic C mineralisation (native soil organic C and added substrate organic C) were investigated.

Sterile soil samples that had been subjected to different physical perturbations were inoculated with microbial communities with different levels of diversity. The samples were incubated for a period of 127 days and the mineralisation of native and added (^{13}C -labelled substrates, fructose and vanillin) organic C was measured. It was hypothesised that the magnitude of the effect of changes in soil structure on organic C mineralisation would increase as diversity decreased.

The diversity treatment had a small but significant effect on the mineralisation of SOC and of the added substrates. The soil structure treatment had a significant effect only on the mineralisation of the added substrate C. There was no interaction between the diversity and soil structure treatments, indicating that the relationship between diversity and organic C decomposition was not dependent on the soil physical environment.

Keywords:

Soil microbial diversity; Soil structure; Soil Organic Carbon mineralisation; Carbon dynamics.

1. Introduction

Global biodiversity is declining worldwide, mainly because of human-induced disturbances in the form of land use and climate change (Chapin III et al., 2000). As a result, an interest in the relationship between biodiversity and ecosystem functioning has emerged in ecological (Loreau et al., 2003). Numerous studies on macro-organisms have demonstrated that the biotic composition of communities within an ecosystem can significantly affect ecosystem process rates, such as primary production, nitrogen cycling or decomposition (e.g. Hector et al., 1999; Cardinale et al., 2006; Tilman et al., 2012). Although the relationship between diversity and functioning has only recently become a topic of interest in soil microbial ecology, a number of studies have investigated the relationship between the diversity of microbial communities and many soil functions such as OM decomposition (Griffiths et al., 2000; Wertz et al., 2006), nitrification (Griffiths et al., 2000; Wertz et al., 2006), potential denitrification (Attard et al., 2011), resistance to disturbance or resilience after disturbance (Griffiths et al., 2001b; Wertz et al., 2007), soil porosity (Martin et al., 2012) and also plant productivity (Chaparro et al., 2012). In contrast to what is seen for higher organisms, little or no consistent relationship has been found between soil microbial diversity and many soil functions, leading to the conclusion that soil microbial communities are characterised by high functional redundancy with respect to many functions (Nannipieri et al., 2003; Nielsen et al., 2011).

It is now well established that interactions between microbial communities and their local environmental (pore network characteristics, chemical properties, oxygen gradients...) not only have significant effects on microbial community structure (Ruamps et al., 2011; Chaparro et al., 2012; Sleutel et al., 2012), but also regulate many of the soil functions carried out by microorganisms, including OM decomposition (Hassink, 1992; Strong et al., 2004), potential denitrification (Attard et al., 2011) and enzyme activity (Allison, 2005). The effects that changes in microbial diversity might have on these interactions are completely unknown however. The objectives of the study presented here were to determine how concomitant changes in the physical structure of soil and in microbial diversity affect the decomposition of OM. It was hypothesised that differences among physical structure treatments would increase as diversity decreased. This hypothesis was based on the idea that diversity provides an

insurance against fluctuations in ecosystem functioning under different conditions due to the fact that different species have different abilities to carry out a given function under different environmental conditions (Loreau et al., 2001). It was also hypothesised that the ability of microbial communities to decompose organic substrate would decrease as microbial diversity decreased and as the complexity of the substrate increased. Underlying this second hypothesis is the assumption that reductions in diversity levels are accompanied by a loss (or a significant reduction) of rarer catabolic functions.

In order to test these hypotheses, an incubation experiment was established in which three soil structure treatments (undisturbed, sieved and dispersed) and three diversity levels were imposed. The different diversity levels were obtained by the removal approach used in Wertz et al. (2006). In addition, soluble ^{13}C -labelled substrates of different complexity were added at the beginning of the incubation. Fructose and vanillin were chosen because the first is a sugar and the other an aromatic aldehyde, and therefore differ in their inherent biodegradability. The production of CO_2 and ^{13}C -labelled CO_2 were then monitored during a 4-month incubation. At the end of the incubation the structure of microbial communities was determined by phospholipid fatty acid (PLFA) profiling.

Materials and Methods

1.1. Soil sampling

In the spring of 2010, undisturbed soil cores (5 cm diameter) were sampled from the surface 15 cm of the conventional cropping system in the “La Cage” long-term field trial at the INRA research centre of Versailles (France) and stored at 4°C until use. The organic C and total N contents were 9.3 ± 0.7 and 1.0 ± 0.07 mg g⁻¹ dry soil, respectively. The soil is classified as an Eutric Cambisol (FAO) with 17% clay, 56% silt and 27% sand, with a pH (water: soil = 1) of 7.4 and a CEC of 11.5 cmol⁺ kg⁻¹ dry soil.

1.2. Soil core preparation, sterilisation and inoculation

After sampling, undisturbed subsamples were excised from the field cores at a depth equivalent to 6-10 cm. The excised samples were used to prepare the different structure treatments. A third of the samples was left intact and was used for the “undisturbed structure” treatment. A second third of the samples was sieved to < 5 mm for the “sieved structure” treatment. The final third of the samples was disaggregated by shaking in water with glass beads according to the protocol proposed by Balesdent et al. (1998). The soil samples were suspended in deionized water with 5 mm diameter glass beads and the aggregates ruptured by mechanical shaking overnight. This ensured that all aggregates were disrupted to < 50 µm. The soil suspension was then air-dried and sieved (< 5 mm) to form artificial aggregates. This final treatment was named “dispersed structure” treatment. The soil in both disturbed treatments was compacted with a hydraulic press to obtain the same bulk density as that of the undisturbed treatment (1.4 g cm⁻³). To ensure that there was no bulk density gradient, the soil was packed in layers. Twenty-seven samples for each soil structure (81 soil cores in total) were then sterilized by gamma radiation (75 kGy, with a minimum exposure of 45 kGy, from a ⁶⁰Co source). The sterilized samples were stored at 4°C for one month in order to ensure that there were no free radicals remaining after the exposure to gamma radiation (McNamara

et al., 2003; Berns et al., 2008). The exposure levels were sufficient to eliminate virtually all microbial species (McNamara et al., 2003). The sterile samples were then inoculated with microbial suspensions obtained from non-sterile soil sampled from the same site. The microbial suspensions were prepared by adding 180 ml $\frac{1}{4}$ strength Ringer solution to 20 g of non-sterile soil and shaking for 30 min with glass beads. Serial dilutions (10^{-4} , 10^{-6} and 10^{-8}) of the suspensions were used to inoculate the sterile soil cores (10 mL suspension per core). The 10^{-4} dilution was termed high diversity treatment, the 10^{-6} dilution intermediate diversity and the 10^{-8} dilution, low diversity. Three independent microbial suspensions were prepared and the three replicate cores per treatment were inoculated with one of the bacterial suspensions. In all, nine samples were prepared for each dilution and each structure and were incubated as described below. The samples were then pre-incubated for seven weeks at 20°C and a matric potential of -31.5 kPa to allow the inoculated communities to become established and to avoid the different flushes of mineralisation that occur as the communities consume (i) the labile C released as a result of the sterilisation and (ii) the C released during the alterations in soil structure. Baumann et al. (2013) showed that after six week pre-incubation microbial densities in microcosms inoculated with different diversity treatments had stabilised at a similar level. During the pre-incubation, the respiration rates of all treatments were stable between the fourth and seventh weeks, suggesting that the flushes of mineralisation had passed (data not shown).

1.3. Addition of two ^{13}C -labelled substrates (fructose and vanillin) and incubation

At the end of the seven-week pre-incubation, twenty-seven microcosms (three replicate microcosms for each level of microbial diversity and each structure) were amended with a solution of either ^{13}C -labelled fructose or ^{13}C -labelled vanillin at a concentration equivalent to 15 mg substrate C g^{-1} soil C. To determine the $\delta^{13}\text{C}$ of the added solutions ($\delta^{13}\text{C}$ fructose = 1722‰ and $\delta^{13}\text{C}$ vanillin = 1272‰), they were previously lyophilised and then analysed with an elemental analyser (EA) coupled to an isotopic ratio mass spectrometer (IRMS) (Annexe A). Unlike the native SOM, the added substrates had a defined initial location in the samples: the substrate solutions (or water in the case of the control samples) were added in order to bring the matric potential of the samples to -31.5 kPa (or pF 2.5). The

samples were then incubated at this matric potential. The substrates had to be soluble to facilitate the amendment of undisturbed samples. These treatments allowed us to determine the effects of soil microbial diversity and soil structure on the mineralisation of different types of organic C.

Immediately after the amendment, the samples were replaced on sample holders in 1 L airtight jars with spring-lock catches. The jars were sealed with rubber gaskets and a glass lid fitted with a septum for headspace sampling. The jars had a wide opening to enable the incubation and easy removal of the cores. In order to maintain a constant humidity during the incubation, 20 ml water was placed at the bottom of each jar. The microcosms were incubated at 20 °C in the dark for 127 days. In total 81 microcosms were incubated (3 microbial diversities x 3 structures x 3 amendments x 3 replicates).

1.4. Measurements of CO₂ concentration and $\delta^{13}\text{C}$

Organic C mineralisation was monitored during the incubation by measuring the CO₂ concentration in the microcosm headspaces on days 1, 3, 7, 14, 21, 28, 49, 70, 91 and 127. The CO₂ concentration was determined by gas chromatography with a MICROGC (Agilent 3000A, Santa Clara, CA, USA). The headspace CO₂ concentration was determined in parts per million and then converted to mg C-CO₂.kg⁻¹ dry soil equivalent. The $\delta^{13}\text{C}$ of the headspace CO₂ was measured using an automatic unit that combined a gas chromatograph 5890 GC (Hewlett-Packard, Palo Alto, California, USA) coupled to an isotope ratio mass spectrometer (IRMS) (Isochrome III, Micromass-GVI Optima) equipped with a 3 m column filled with a Prorapak QS stationary phase (80-100 mesh) (Annexe B). At the beginning of the incubation the jars' atmosphere was CO₂-free, and after each measurement, all jars were flushed with reconstituted and moistened CO₂-free air.

1.5. Quantification of labelled substrate and native organic carbon mineralisation

SOC mineralisation in the samples that had received labelled substrate (fructose or vanillin) was calculated using the following equation:

$$SOC\ mineralisation = \alpha \times Q_{sample} \quad (1)$$

where $\alpha = (A_{fructose\ or\ vanillin} - A_{sample}) / (A_{fructose\ or\ vanillin} - A_{control})$, Q is the amount of CO₂ in the flask's atmosphere in mg CO₂-C kg⁻¹ dry soil equivalent and $A_{fructose\ or\ vanillin}$, A_{sample} and $A_{control}$ represent the isotopic abundance of fructose or vanillin, of CO₂ in the sample headspace and of CO₂ in headspace of control samples (i.e. samples to which water was added rather than labelled substrate), respectively. The mineralisation of labelled substrate was calculated using the following equation:

$$Fructose\ or\ vanillin\ mineralisation = (1 - \alpha) \times Q_{sample} \quad (2)$$

1.6. Phospholipid fatty acids (PLFA) analysis and microbial biomass

Lipid profiles were established after extraction from 10 g soil using the method described by Frostegård et al. (1993). Phospholipids were separated from neutral- and glycolipids on solid phase extraction columns (Extract Clean®Silica, Grace). After methylation the fatty acid methyl esters (FAME) were identified using the retention time of chromatograms and mass spectral comparison on a Hewlett Packard 6890 gas chromatograph equipped with either a Flame Ionisation Detector (GC-FID) or an Agilent 5973 Electronic Impact (70 eV) quadrupole Mass Spectrometer (GC-MS). A standard qualitative bacterial acid methyl esters mix (Sigma-Aldrich) that ranged from C11:0 to C20:0, was used for the identification of sample FAME based on retention time.

The relative abundance of each fatty acid was used to compare the community structure between the samples. All fatty acids contributing less than 1% to the fatty acids pool were removed before analysis. Standard fatty acid nomenclature was used, as described previously in Frostegård et al. (1993). Mono-unsaturated and cyclopropyl fatty acids (C16:1w9, C18:1w9c, C18:1w9t, cycC17:0, cycC19:0) were taken as Gram-negative bacterial

biomarkers (Zelles, 1999), iso- and anteiso-fatty acids (iC15:0, aC15:0, iC16:0, iC17:0, aC17:0) as Gram-positive bacterial biomarkers (Zelles, 1999), C18:2w(9,12) as a fungal biomarker (Frostegård et al., 1993; Zelles, 1997). The total bacterial community was represented by the sum of the Gram-positive and Gram-negative bacterial biomarkers as well as C15:0 and C17:0. Fungi/Bacteria and Gram-positive/Gram-negative ratios were calculated by dividing the respective sums of biomarkers. The total microbial biomass was estimated as the total PLFA peaks areas (Frostegård and Bååth, 1996).

1.7. Statistical analysis

Statistical analyses were performed using R version 2.14.0 (R Development Core Team, 2009. R: a language and environment for statistical computing. Available at <http://www.Rproject.org>). A two-compartments, first-order model (equation 3) was used to describe the mineralisation kinetics of the two added substrates:

$$CO_2 = C_{fast}(1 - e^{-\alpha t}) + C_{slow}(1 - e^{-\beta t}) \quad (3)$$

where t is time in days, C_{fast} is the pool of substrate C (fructose or vanillin) that was mineralised rapidly, C_{slow} is the pool of substrate C that was mineralised more slowly and α and β are the associated first-order rate constants. The effect of the various treatments on the mineralisation of fructose and vanillin was verified by analysis of variance (ANOVA) of the four model parameters. The rate parameters (α and β) were log transformed before ANOVA in order to normalised the data. The use of this model to describe the mineralisation of the added substrates can be justified on the basis that a portion of the substrate C is mineralised directly whilst the remaining substrate C is mineralised only after microbial processing. This means that the molecular form of part of the labelled C was altered before being mineralised. It is also probable that some of the original substrate was mineralised more slowly because it was located in pores that did not contain degraders and therefore had to diffuse to sites of degradation activity.

The model did not converge for SOC mineralisation curves. Therefore, differences in total SOC mineralisation at the end of the incubation were analysed by three-way ANOVA using diversity, structure and substrate treatments as factors (diversity x structure x substrate amendment). Differences in microbial biomass were analysed by the same ANOVA structure.

The impact of the treatments (diversity, structure and substrate amendment) on microbial community structure (PLFA) was determined after ordination by Principal Components Analysis (PCA) using the “Vegan: Community Ecology Package” package in R version 2.14.0.

2. Results

2.1. Soil organic carbon mineralisation

The shape of cumulative SOC mineralisation curves was always the same, regardless of treatment (Fig. IV.1 & Fig. IV.2). The mineralisation rate was highest at the beginning of the incubation and decreased gradually to reach a constant rate after about two months (Fig. IV.1). At the end of the incubation, there were significant differences in the amount of C mineralised among diversity levels, with the least diverse treatment mineralising significantly less ($P < 0.05$) than the most diverse treatment (Fig. IV.1 & Fig. IV.2). There were no significant differences among structure treatments and the addition of fresh substrate (fructose or vanillin) did not have a significant effect on the mineralisation of SOC (i.e. there was no priming effect).

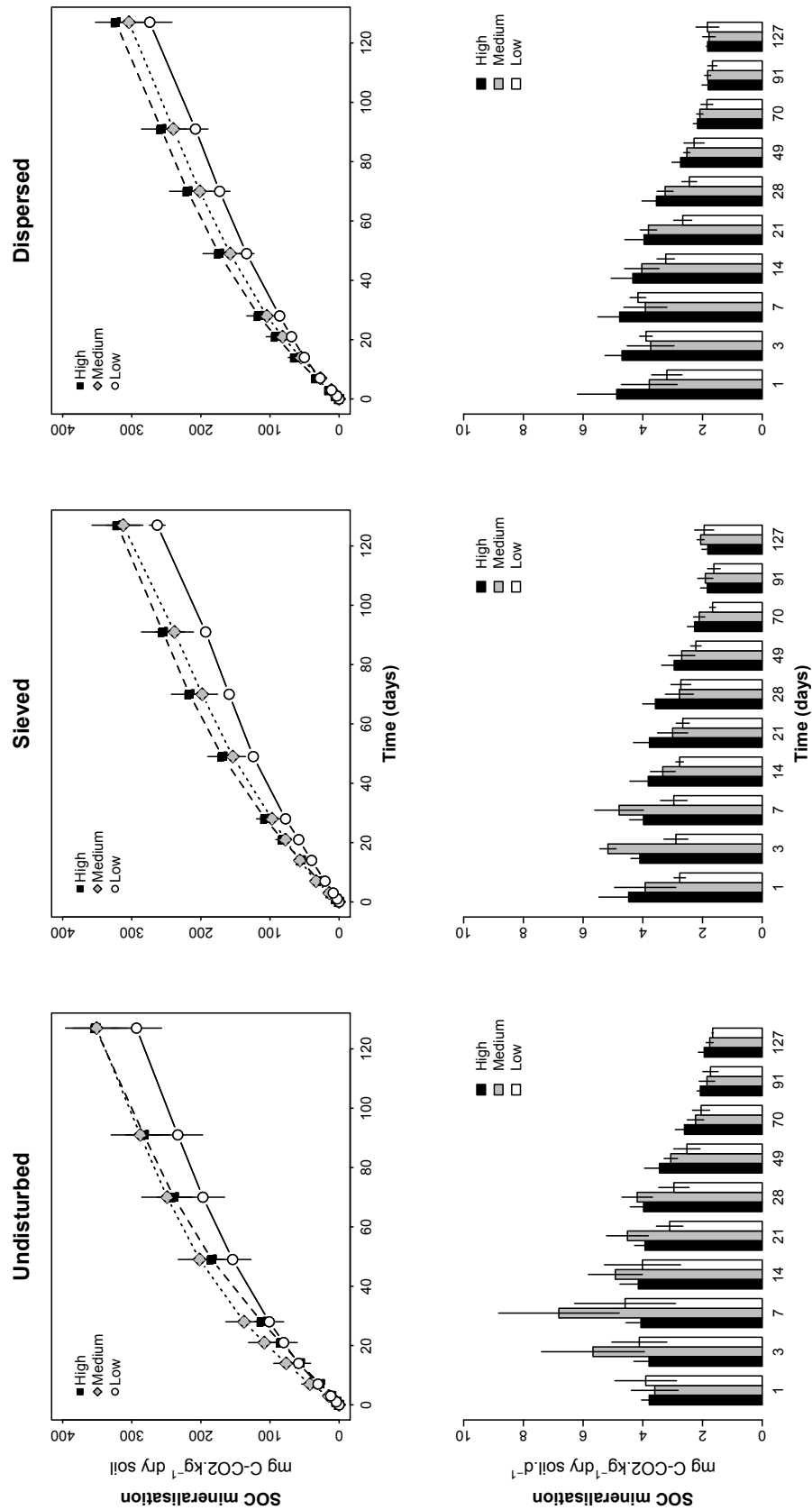


Figure IV.1: Cumulative and daily soil organic carbon mineralisation in control samples for the different diversity (high in dashed lines, medium in dotted lines and low in full lines) and structure treatments (undisturbed on the left, sieved on the middle and dispersed on the right). Values are expressed as mg C-CO₂.kg⁻¹ dry soil equivalent and mg C-CO₂.kg⁻¹.day⁻¹ dry soil equivalent, respectively. Error bars represent standard error (n=3).

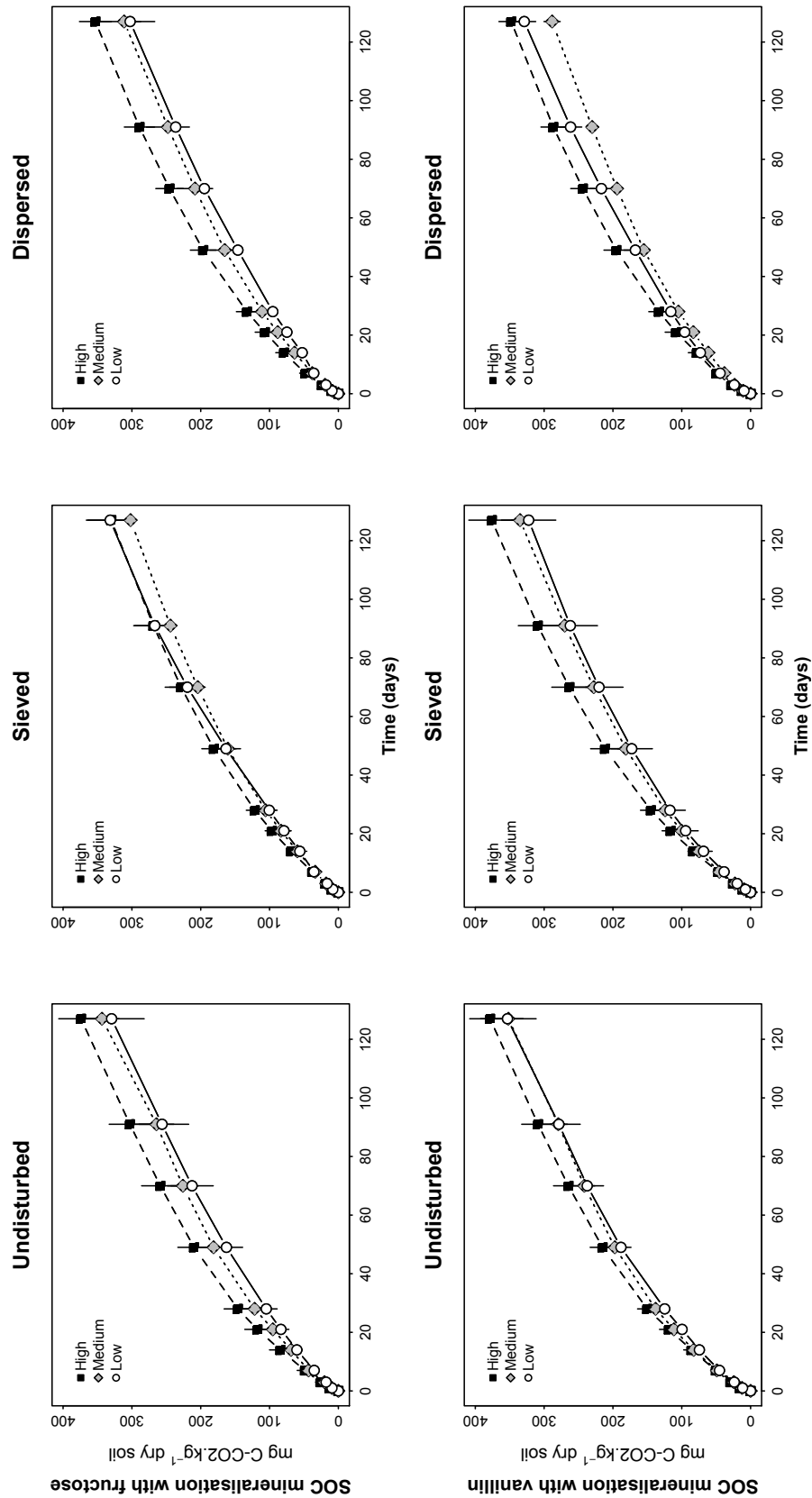


Figure IV.2: Cumulative soil organic carbon mineralisation in amended samples with fructose (top) or vanillin (bottom) for the different diversity (high in dashed lines, medium in dotted lines and low in full lines) and structure treatments (undisturbed on the left, sieved on the middle and dispersed on the right). Values are expressed as mg C-CO₂.kg⁻¹ dry soil equivalent. Error bars represent standard error (n=3).

2.2. Substrate mineralisation

The mineralisation dynamics of the two substrates were clearly different: more fructose C than vanillin C was mineralised during the incubation and the rate of fructose C mineralisation at the beginning of the incubation was higher (Fig. IV.3 & Fig. IV.4). All the model parameters (sizes of the fast and slow pools and mineralisation rates of both pools) were significantly greater for fructose mineralisation than for vanillin mineralisation (Table IV.1). In samples amended with fructose, alterations in the physical structure of the soil significantly affected the size ($P < 0.05$) and mineralisation rate of the C_{fast} pool ($P < 0.01$) but had no effect on the C_{slow} pool. The C_{fast} pool in the sieved samples was smaller than in the dispersed samples, and this pool was mineralised more slowly in sieved samples than in undisturbed samples (Table IV.1). There were also diversity effects: the mineralisation rates of both C pools were consistently the lowest across treatments, but the differences were only significant in the case of the C_{slow} pool rate of fructose amended samples (Table IV.1). The size of both C pools did not vary as a function of diversity level. There were no significant interactions between the structure and diversity treatments for any of the parameters, suggesting that the C mineralisation activity of the different microbial diversity levels was affected in the same way by the alterations in soil structure.

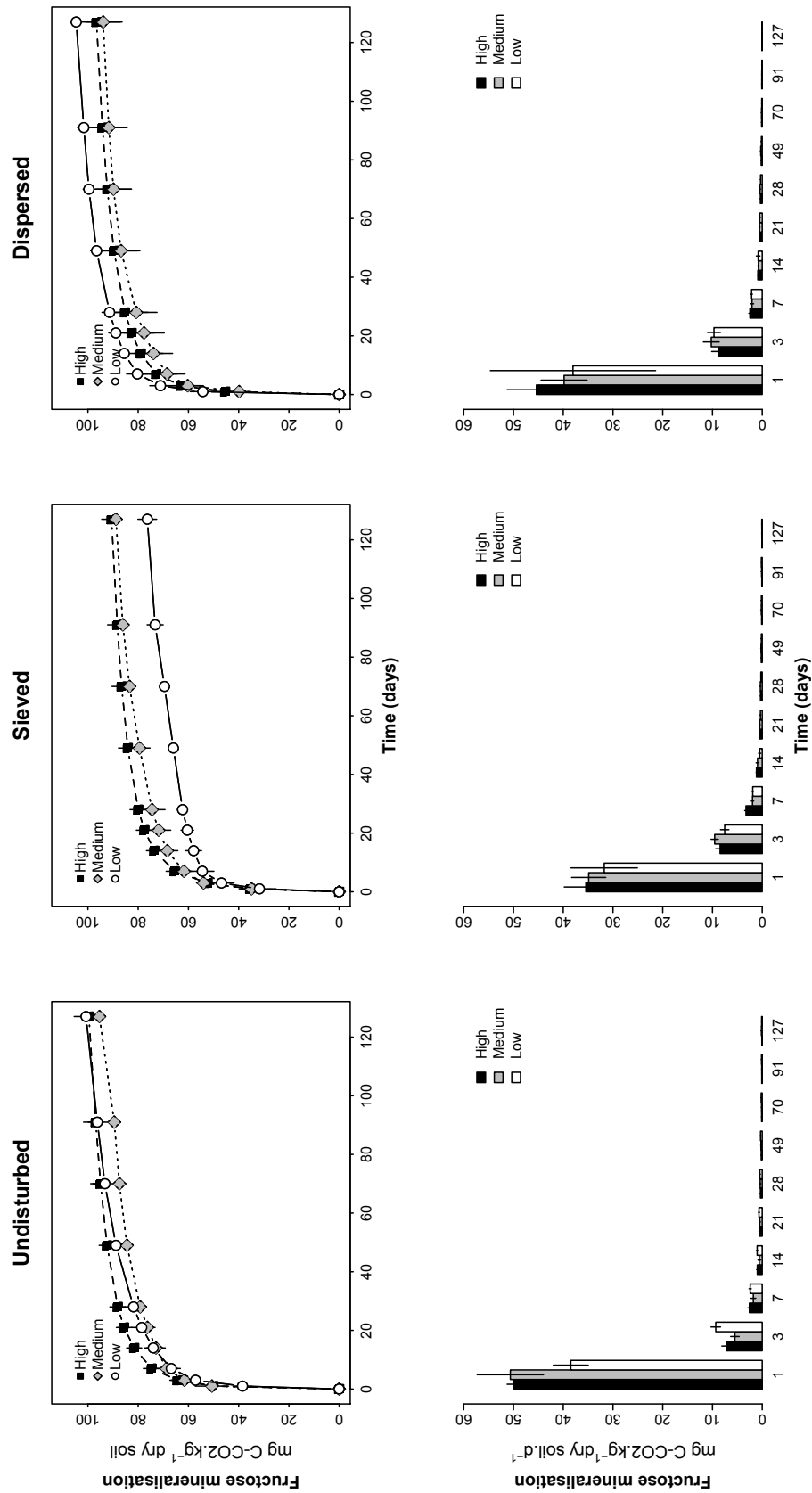


Figure IV.3: Cumulative and daily fructose mineralisation for high (dashed lines), medium (dotted lines) and low (full lines) diversity treatments, in undisturbed (left), sieved (middle) and dispersed (right) samples. Values are expressed as mg C-CO₂.kg⁻¹ dry soil equivalent and mg C-CO₂.kg⁻¹.day⁻¹ dry soil equivalent, respectively. Error bars represent standard error (n=3).

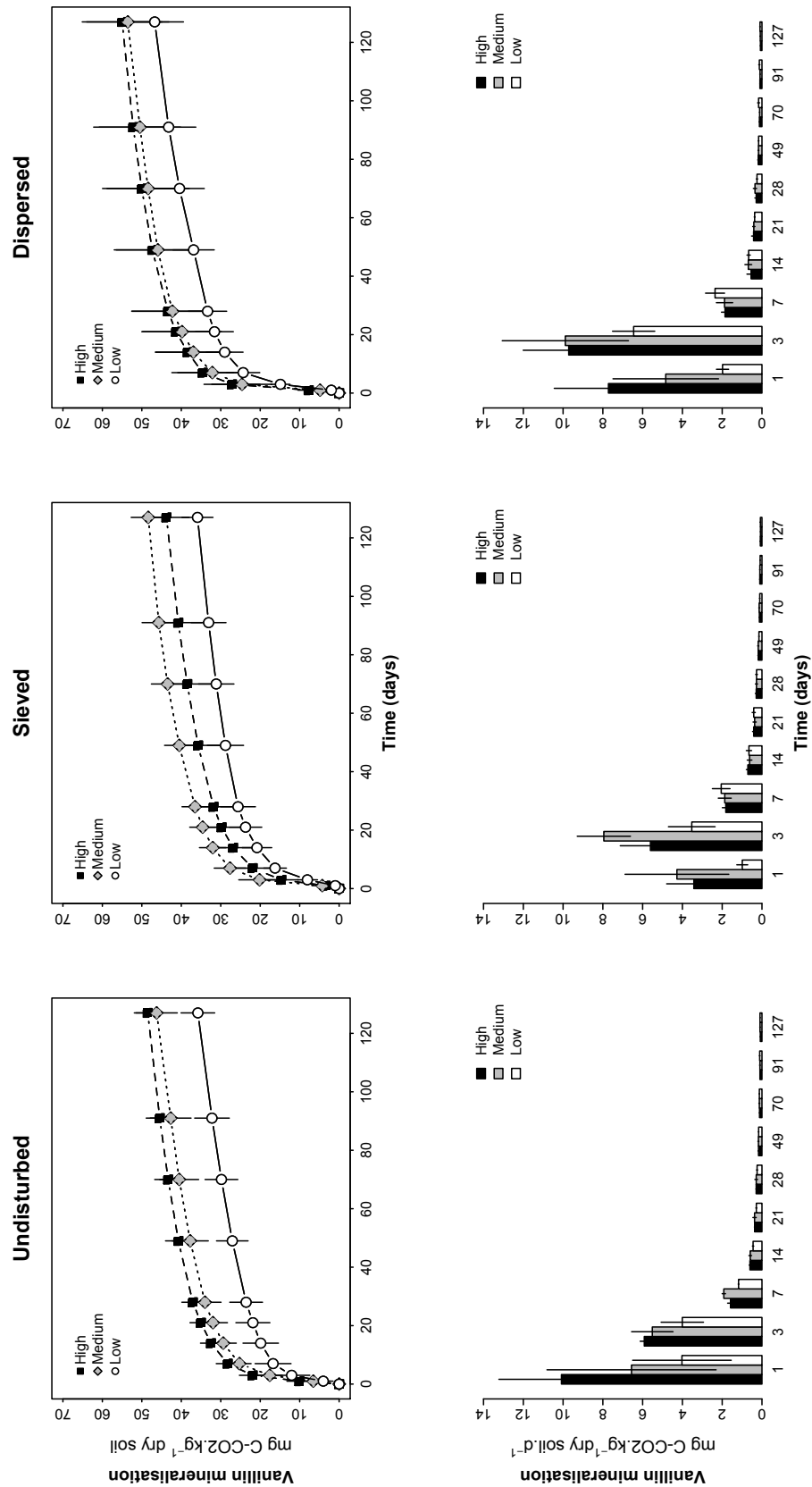


Figure IV.4: Cumulative and daily vanillin mineralisation for high (dashed lines), medium (dotted lines) and low (full lines) diversity treatments, in undisturbed (left), sieved (middle) and dispersed (right) samples. Values are expressed as $\text{mg C-CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \text{ dry soil}$ equivalent and $\text{mg C-CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{day}^{-1} \text{ dry soil}$ equivalent, respectively. Error bars represent standard error ($n=3$).

Table IV.1: Means and standard deviations of the four model parameters for the substrate (fructose and vanillin), structure (undisturbed, sieved and dispersed) and diversity treatments (high, medium and low). In each column different letters indicate significant differences within each treatment.

Treatments	Model parameters							
	Substrate							
	Fructose				Vanillin			
Structure	C_{fast}	C_{slow}	α	β	C_{fast}	C_{slow}	α	β
Undisturbed	60.98±6.95 ^{ab}	47.42±14.52 ^a	1.37±0.35 ^a	0.036±0.018 ^a	23.85±6.32 ^a	29.90±10.81 ^a	0.38±0.18 ^a	0.012±0.006 ^a
Sieved	52.52±5.49 ^a	36.14±11.37 ^a	0.97±0.27 ^b	0.038±0.023 ^a	25.39±6.55 ^a	30.53±11.33 ^a	0.23±0.11 ^a	0.010±0.006 ^a
Dispersed	64.93±11.45 ^b	32.01±6.05 ^a	1.15±0.24 ^{ab}	0.037±0.012 ^a	32.59±11.25 ^a	28.14±9.53 ^a	0.29±0.09 ^a	0.011±0.005 ^a
Diversity	C_{fast}	C_{slow}	α	β	C_{fast}	C_{slow}	α	β
High	59.82±9.65 ^c	33.90±4.63 ^c	1.21±0.33 ^c	0.049±0.010 ^c	29.26±8.55 ^c	27.16±9.07 ^c	0.35±0.15 ^c	0.014±0.006 ^c
Medium	58.89±9.86 ^c	40.64±15.72 ^c	1.21±0.36 ^c	0.033±0.020 ^{cd}	30.07±9.14 ^c	28.65±10.56 ^c	0.32±0.15 ^c	0.012±0.006 ^c
Low	59.06±10.08 ^c	36.59±12.51 ^c	1.06±0.29 ^c	0.028±0.015 ^d	22.50±7.92 ^c	32.76±11.25 ^c	0.22±0.10 ^c	0.007±0.004 ^c

2.3. Microbial biomass and phospholipid fatty acids (PLFA) profiles

No treatments effects on the total microbial biomass, estimated as the total PLFA peaks areas, were observed. The ratio C18:2w(9,12) to bacterial PLFA was used as an index of the fungal/bacterial ratio. This ratio was significantly higher in undisturbed samples ($P < 0.01$) because significantly more fungal biomarkers were found in undisturbed samples ($P < 0.01$). This ratio was however not significantly affected by the diversity or substrate treatments. The ratio of Gram+/Gram- was significantly higher in the dispersed samples ($P < 0.01$) and also slightly lower in samples inoculated with the medium diversity treatment ($P < 0.05$) (data not shown).

Microbial community structure at the end of the incubation differed significantly among diversity treatments (Fig. IV.5). This was evident along the second principal component axis ($P < 0.01$), which represented 15% of the total variance in the PLFA data. The PCA loadings indicated that the structure of the least diverse treatment was mainly due to the presence of Gram-positive biomarkers (aC15:0, iC15:0, iC16:0, iC17:0). The microbial community structure was also affected by the soil structure treatment ($P < 0.01$) along the first ordination axis of the PCA, which represented 28% of the total variance. Sieved samples were significantly different from the dispersed ones; there were slightly more fungal biomarker in sieved samples.

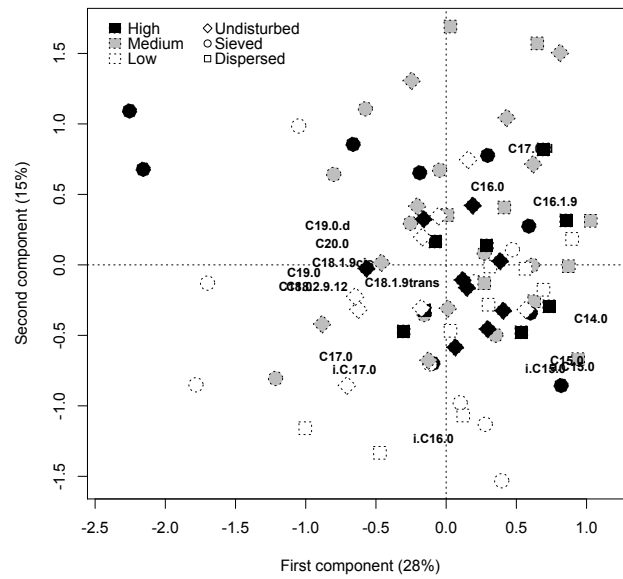


Figure IV.5: Principal Component Analysis (PCA) of phospholipid fatty acids (PLFA) profiles at the end of the incubation for the different diversity treatments (high in black, medium in grey and low in white) in undisturbed, sieved and dispersed samples.

3. Discussion

Most studies of the relationships between microbial diversity and soil functions have failed to identify any consistent diversity effect. This has resulted in the belief that soil microbial communities are characterised by an inherent functional redundancy (Nannipieri et al., 2003). The functional redundancy is believed to arise from the very large number of species found in soil microbial communities: when species responsible for a given activity are lost, others can readily replace their activity. This very high species richness may not have been properly accounted for in the setting up of diversity erosion experiments. It is possible that in many of the studies that manipulated microbial diversity, the least diverse treatments were still sufficiently species rich to contain the functions examined. Wertz et al. (2006) simulated the effects of dilutions on the species richness of inocula assuming that the initial richness and frequency distribution curves were those reported in Gans et al. (2005). The simulation suggested that several hundred species remained after 8 serial dilutions, likely sufficient for the maintenance of many functions. It should be noted however, that experimental evidence Roesch et al. (2007) suggests that Gans et al. (2005) overestimated microbial species richness in soil and therefore, the species richness of the different diversity levels may be somewhat lower. It is for these reasons that we chose to ignore levels of diversity that were very species rich and to focus the investigation on relatively species poor levels of microbial diversity. Nevertheless, the most diverse treatment here was likely to have contained several thousands species or more, depending on the initial species frequency distribution, and this level of diversity has been shown to be functionally similar to higher levels of diversity (e.g. Wertz et al., 2006). Although we did not measure species richness directly in the samples, the method we used to establish different diversity levels (by species removal) has been used and validated by others (Griffiths et al., 2001b; Wertz et al., 2006).

The aim of this work was to determine whether reductions in the diversity of microbial communities affected their capacity to decompose OM when their local environment (i.e. their habitat) was altered. The different types of microbial habitat were created by changing the physical structure of the soil. It was hypothesised that the magnitude of the effect of changes in soil structure would increase as diversity decreased. This hypothesis was rejected because there was no evidence that the soil structure effect was greater with less diverse

communities, either on the mineralisation of SOC or on the mineralisation of the added substrates.

3.1. Microbial diversity effects

There were significant microbial diversity effects on the rates of organic C decomposition (α and β) and on the amount of SOC decomposed during the incubation (after 127 days). This suggests that when the diversity of microbial communities is very low, as was probably the case for the low diversity treatment here (see Wertz et al., 2006), microbial communities have the capacity to decompose OM, but do so at a slower rate. The size of the microbial biomass did not differ among treatments at the end of the incubation, suggesting that the differences observed were not due to biomass effects. It has been shown previously that the microbial biomass is not necessarily related to microbial respiration (Kemmitt et al., 2008). The PLFA profiles indicated that the structure of the least diverse communities were significantly different from the communities of the other diversity levels, suggesting that the species makeup of the microbial communities may play a regulatory role in SOC mineralisation. The relative abundance of Gram-positive bacteria in the less diverse treatment was greater. Gram-positive bacteria are believed to be “K-strategist” bacteria with a lower growth rate (Fierer et al., 2007; Elfstrand et al., 2008). Although SOC mineralisation is a widespread soil ecosystem function, in that most soil microorganisms are heterotrophs and are capable of breaking down SOM, it may be that there is a diversity threshold level beyond which ecosystem functions are no longer maintained. Were this the case, it would be interesting to determine what this threshold value is and whether it is consistent across a range of systems. It should be noted that the differences among diversity levels were not very significant because the within treatment variability was high. High inter-replicate variability, probably due to stochastic processes that occurred during the inoculation and the rapid growth stages at the beginning of the incubation, has also been observed by others in this type of experiment (Griffiths et al., 2001b; Wertz et al., 2006).

There were no differences in the size of the ^{13}C -labelled substrate pools among diversity levels. It is not terribly surprising that the C_{fast} pools did not differ among diversity as neither compound was particularly complex and it would be expected that the capacity to degrade these compounds would be quite widespread. The C_{slow} pool however, is likely to be

made up of ^{13}C -labelled products of microbial metabolism as well as a part of the initially added compound, suggesting that the microbial communities all had the similar catabolic ranges. This, of course, would need to be verified.

3.2. Physical structure and substrate amendment effects

Only the size and mineralisation rate of the C_{fast} pool were affected by the alterations in soil structure. The different structure treatments most likely resulted in different effective diffusion pathway lengths from the surface of the samples to the sites of decomposition because the pore networks were changed by the structure treatments (Juarez et al., Accepted). The fact that there were no soil structure treatment effects on either the C_{slow} pool or on the native organic C mineralisation was a surprise. Although the soil structure was altered, the bulk density was kept constant across treatments, meaning that the total porosity in the samples was not changed. Therefore, microbial access to oxygen and local access to substrate may not have varied sufficiently for differences in activity to be observed.

The higher relative abundance of fungi observed in the sieved relative to the dispersed treatments suggests that the physical environment (pore size distribution, tortuosity, air-filled porosity) in this treatment was more suitable for fungal development. Indeed, it is known that soil structure is a major regulator in the exploration of soil volume by fungi (Harris et al., 2003).

The differences observed between the amounts of substrate mineralised reflected their different chemical complexities (even if these two substrates are easily degradable) and their different adsorption/desorption processes (Zhang et al., 2007).

4. Conclusion

The results showed that soil biodiversity erosion had, as expected, an impact on soil microbial community structure (Griffiths et al., 2001a, b; Wertz et al., 2006, 2007; Garcia-Pausas and Paterson, 2011). However, there was also an unexpected, if small, effect on the mineralisation of SOC and labile substrates, suggesting that the functional redundancy often associated with soil microbial communities may not always hold. The diversity effects on organic C mineralisation, although small, were nevertheless greater and more significant than the soil structure treatment effects, suggesting that soil microbial diversity may exert more control on SOC dynamics than does soil structure, at least under these conditions (optimal water content and same bulk density) and when the levels of diversity are very low. It would be interesting to determine the diversity levels below which SOC decomposition is affected and also to determine whether there is a threshold level across soils or whether any threshold is soil dependent. Furthermore, only one matric potential was used in this experiment. It would be necessary to determine whether the relationship between microbial diversity and SOC decomposition remains the same under other moisture conditions in order to better predict how decomposition will be affected by future climate change.

AVANT-PROPOS AU CHAPITRE V

Dans les chapitres III et IV les effets respectifs de la structure du sol et de la diversité microbienne sur la décomposition du carbone organique ont été analysés. Tels que modifiés dans nos expérimentations ces deux facteurs n'ont que peu ou pas d'effet sur la minéralisation du carbone du sol.

Dans ce chapitre nous allons tenter de hiérarchiser l'effet des conditions de l'habitat microbien face à celles des communautés microbiennes. L'effet abiotique c'est-à-dire l'habitat microbien ne sera pas ici restreint à la structure, et l'effet biotique c'est-à-dire celui du aux décomposeurs ne se limitera pas à la diversité, puisque des sols aux propriétés physiques et aux communautés microbiennes très différentes seront utilisés.

Metabolic Rate
Mineralisation Carbon
COMMUNITIES
CROSSING INOCULATIONS
Decomposition
HABITATS
Microbial
capacities
PLFA
biomass
Soil

Chapitre V. Hiérarchisation de deux facteurs de la biodégradation des matières organiques du sol : propriétés de l’habitat microbien versus communautés microbiennes

*Hierarchy of two drivers of soil organic matter
biodegradation: microbial habitat properties versus microbial
communities*

Sabrina Juarez¹, Naoise Nunan², Valérie Pouteau³, Thomas Lerch⁴ and Claire Chenu¹

Laboratoire Biogéochimie et Ecologie des Milieux Continentaux (AgroParisTech¹, CNRS², INRA³, UPEC⁴), UMR 7618, Bâtiment EGER, 78850 Thiverval Grignon, France

To be submitted to ‘Soil Biology and Biochemistry’

RÉSUMÉ

Les communautés microbiennes du sol vivent dans un réseau tridimensionnel complexe dans lequel une gamme de niches écologiques aux propriétés variées existent. L'importance des propriétés de l'habitat microbien relativement à celle des propriétés intrinsèques des communautés microbiennes dans la régulation de la décomposition des MOS est encore mal compris. De nombreuses études ont montré que les principaux facteurs influençant l'abondance et la diversité des communautés microbiennes des sols sont les caractéristiques physico-chimiques du sol comme la texture, le pH, la CEC et la quantité et la qualité de la MO, mais également les pratiques culturales et la plante de couverture. Dans le but de travailler avec des communautés microbiennes différentes nous avons choisi six sols contrastés provenant de la même région (Ile-de-France) et donc avec les mêmes conditions climatiques. Pour ces sols aux propriétés physico-chimiques (texture, pH, MO, CEC), aux pratiques culturales et donc aux caractéristiques de l'habitat microbien différentes, nous avons vérifié l'existence de communautés microbiennes diverses, de par leurs structures et activités.

Dans le but de découpler les effets liés à l'habitat microbien de ceux liés aux communautés microbiennes, nous avons stérilisé les sols avec des rayonnements gamma, et procédé à des inoculations croisées. Chaque communauté microbienne a été extraite de son sol natif par une solution saline et inoculée dans chacun des six sols au préalable stérilisés. Pendant l'incubation de 150 jours, la minéralisation du C a été mesurée, et les capacités de dégradation de la MO ainsi que les structures des communautés microbiennes ont été analysées. L'utilisation d'un modèle du premier ordre à deux compartiments a permis de faire converger les courbes de minéralisation cumulées, et ainsi des paramètres ont été extraits. L'habitat microbien s'avère être le déterminant dominant de la minéralisation du carbone organique du sol, et de la structure des communautés microbiennes. Cependant, le taux de minéralisation du pool natif (paramètre β), ainsi que les capacités métaboliques dépendaient de la communauté microbienne.

Mots-clés :

Habitat microbien ; Communauté microbienne ; Inoculation croisée ; Décomposition des Matières Organiques du Sol ; Dynamique des Matières Organiques du Sol.

ABSTRACT

Soil microbial communities live in a soil complex three-dimensional framework in which a range of microbial niches with a variety of properties exists. The importance of these habitat properties relative to the intrinsic properties of microbial communities in the regulation of SOM decomposition is still unclear. Some studies have shown that the main factors structuring and driving community abundance and diversity are soil physico-chemical characteristics, such as texture, pH, and OM status (quantity and quality), but include also soil management and plant cover. In order to work with different soil microbial communities, we choose six contrasted soils from a same region (Ile-de-France, France), so with the same climatic conditions. These soils vary in texture, pH, OM status, so we have different microbial habitat conditions, and we verified the existence of different microbial communities (their structures and activities).

In order to uncouple effects linked to microbial habitat properties from ones linked to microbial communities we sterilized soils by gamma radiations and proceeded to crossing inoculations. Each soil microbial community was extracted from its native soil by a saline solution, and inoculated in each on the six different sterilized soils. During the incubation, C mineralisation was measured, and the microbial degradation capacities as well as the microbial communities structures were analysed. The cumulative respiration curves were fitted with two-compartments first-order model, and parameters were extracted. Microbial habitat was the dominant determinant of SOC decomposition, and of microbial community structure. Nevertheless, the mineralisation rate of the native pool (β parameter) as well as the metabolic capacities were affected by the microbial community effect.

Keywords:

Microbial habitat; Microbial community; Cross-inoculation; Soil organic matter decomposition; Soil organic matter dynamics.

1. Introduction

Soil microbial communities live in a complex and dynamic habitat. Mechanisms governing their activity in general and the decomposition of SOM in particular are still misunderstood. Some studies suggest that abiotic processes dominate SOM decomposition, mainly through physical mechanisms (i.e. occlusion within aggregates, adsorption onto minerals) that limit the access decomposers have to organic substrate (e.g. Six et al., 2000, 2002; Kemmitt et al., 2008; Dungait et al., 2012). Microbial habitat properties are therefore likely to profoundly affect microbial decomposition of SOM. In contrast, others studies have concluded that soil microbial communities, acting as catalysts of biogeochemical cycles by converting organic material to inorganic substances, play a dominant role in SOM decomposition (e.g. Kuzyakov et al., 2009; Schimel et al., 2012).

Most studies on the relationship between microbial diversity and SOC decomposition indicate that there is little relationship between the two (Degens, 1998; Griffiths et al., 2001b; Wertz et al., 2006, 2007; Nielsen et al., 2011). The lack of relationship is believed to be due to a certain functional redundancy in microbial communities. However, the experiments on which this conclusion is based may always contain the same dominant microbial species and the same dominant active species. In these experiments the different levels of diversity were produced by successive dilutions (Wertz et al., 2006, 2007) or by different fumigation intensities (Griffiths et al., 2000). When diversity is eroded by dilution the rare species tend to be lost first and the most abundant remain present in all diversity levels. When fumigation is used to create different levels of diversity the species that are most resistant to the fumigant (mostly chloroform) are likely to be found at all levels of diversity.

In order to overcome this potential problem and to determine whether functional redundancy is an inherent property of microbial communities, an experiment in which microbial communities from different soils were cross-inoculated into a range of sterilised soils with different properties (texture, pH, OM status) was established. Soil respiration was measured for a period of 5 months. The experiment was designed to test the hypothesis that soil organic C mineralisation can be carried out in the same way regardless of the species composition of the microbial communities present. The different microbial communities were

expected to exhibit similar OM mineralisation rates in each of the soils. The mineralisation rates were expected to differ among soils however, regardless of the microbial communities present.

2. Materials and methods

2.1. Soils and sampling

Six soils with different physico-chemical properties and different land-use histories were selected in order to obtain a range of abiotic properties likely to influence organic C mineralisation and a range of microbial community structures and metabolic capacities (Table V.1). Samples were collected from to the top 10 cm at each site. Four soils were sampled in the autumn of 2011: two Cambisols in Dammartin-en-Serve, one from a temperate forest (BF) and the other from a conventional cropping system (BC), a Podzol in the “Domaine National de Rambouillet” under heathland (PP), and a Luvisol that had been bare-fallow since 1959 from the “36 parcelles” experiment at the INRA research centre of Grignon (36P). The remaining two soils were sampled in January 2012. Samples were taken from the organic (LCB) and conventionally managed (LCC) plots of the “La Cage” long-term trial at the INRA research centre of Versailles. The soil at this site is classified as a Luvisol and the plots differed only by the cropping system to which had subjected for 14 years. All the soil characteristics are shown in Table V.1.

Table V.1: Basic soil properties of the 6 soils used in this study.

Soil type	Localisation	Plant cover	C	N	OM	CaCO ₃	pH	CEC	mg.g ⁻¹ soil		
									Clay	Silt	Sand
Conventional Luvisol (LCC)	+48° 48' 28.78", +2° 4' 55.00"	Wheat	10	1	17.3	<1	6.69	11.7	165	638	196
Organic Luvisol (LCB)	+48° 48' 28.78", +2° 4' 55.00"	Wheat	10	1	17.3	<1	6.69	11.7	165	638	196
Cultivated Cambisol (BC)	+48° 54' 8.70", +1° 36' 21.19"	Colza	18.4	1.69	31.8	19.8	8.13	22.2	408	472	99
Forest Cambisol (BF)	+48° 54' 8.70", +1° 36' 21.19"	Temperate forest with oak	69.6	3.95	120	7.4	6.97	36.4	459	444	89
Podzol (PP)	+48° 38' 23.59", +1° 46' 28.91"	Heathland with calluna	15.7	1.16	27.1	<1	6.22	5.05	45	89	865
Bare Fallow (36P)	+48° 51' 1.26", +1° 57' 3.69"	Bare fallow	8.34	0.83	14.4	33.3	8.38	15.6	290	535	141

2.2. Soil water retention

The moisture characteristics (desiccation curves) of the soils were established in triplicate using pressures plate (Fig. V.1). The moisture characteristic curves were used to estimate the volume accessible to microorganisms at a matric potential of -31.5 kPa (pF 2.5) as well as the volume available for oxygen diffusion.

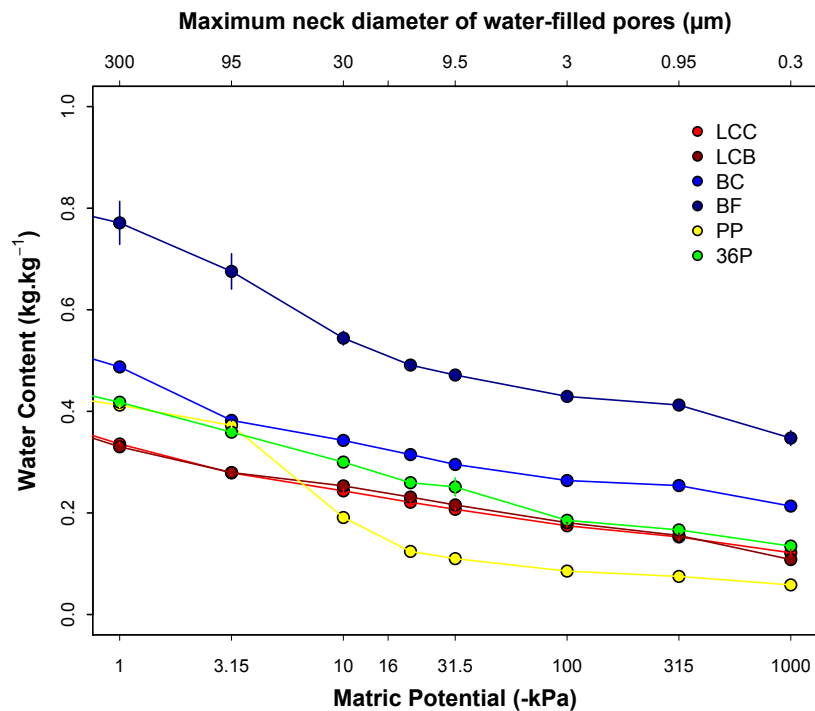


Figure V.1: Matric potential curves for the different soils. (Conventional Luvisol (LCC); Organic Luvisol (LCB); Cultivated Brunisol (BC); Forest Brunisol (BF); Podzol (PP); Bare Fallow (36P)). Error bars represent standard error (n=3).

2.3. Preparation of soil cores, sterilisation and inoculation

After sampling, the six different soils were sieved to < 5 mm and for each soil 25 g (dry soil equivalent) were placed in PVC cylinders. Two hundred and sixteen cores (36 cores per soil) prepared in this way were then sterilized by gamma radiation (75 kGy, with a minimum exposure of 45 kGy, from a ^{60}Co source; IONISOS). The sterilized samples were

then stored at 4°C for one month in order to ensure that there were no free radicals remaining after the exposure to gamma radiation (McNamara et al., 2003; Berns et al., 2008).

Microbial suspensions from the six soils were prepared and the sterile cores cross-inoculated.

The suspensions were prepared by adding 180 ml $\frac{1}{4}$ strength Ringer solution to 20 g of non-sterile soil and shaking for 30 min with glass beads. Three independent microbial suspensions from each soil were prepared ($6 \times 3 = 18$ suspensions), and two replicate cores of each of the sterile soils were inoculated (2 mL) with each of the suspensions, resulting in 6 replicate cores per treatment. The volume of the microbial suspension was adjusted to bring the samples to a matric potential of -10 kPa and subsequently air-dried under sterile laminar flow hood to reach the incubation matric potential of -31.5 kPa. This was done to ensure that the inocula were spread throughout the soil cores. Two cores per replicate were inoculated in order to allow destructive sampling during the incubation (see below). The soil cores were labelled using the same identification code as that used for the microbial communities, the microbial communities being in the lower case and the soils in the higher case.

2.4. Incubation and measurements of CO₂ concentration

Samples were placed on sample holders in 1 L airtight jars with spring-lock catches. The jars were sealed with rubber gaskets and a glass lid fitted with a septum for headspace sampling (Girardin et al., 2009). The jars had a wide opening to enable the easy removal of the cores for further analyses. All the incubation equipment was sterilized by autoclaving before use. In order to maintain a constant humidity during the incubation, 20 ml water was placed at the bottom of each jar. The water content of the cores was determined gravimetrically during the incubation and adjustments were made with sterilized water where necessary. The microcosms were incubated at 20°C in the dark for 150 days. In total 108 microcosms containing two cores with the same treatment were incubated ((6 soils x 6 communities x 3 replicates = 108 microcosms) x 2 cores = 216 cores).

Organic C mineralisation was monitored during the incubation by measuring the CO₂ concentration in the microcosm headspaces at days 1, 3, 7, 14, 28, 43, 56, 70, 84, 105, 133 and 150. The CO₂ concentration (ppm) was determined by gas chromatography with a

MICROGC (Agilent 3000A, Santa Clara, CA, USA). At the beginning of the incubation the jars' atmosphere was CO₂-free, and after each measurement all jars were flushed under sterile conditions with reconstituted and moistened CO₂-free air.

2.5. Microbial community structure analysis (PLFA)

Lipid profiles were established after extraction of 10 g soil using the method described by (Frostegård et al., 1993). Phospholipids were separated from neutral- and glycolipids on solid phase extraction columns (Extract Clean®Silica, Grace). After methylation, the fatty acid methyl esters (FAME) were identified using the retention time of chromatograms and mass spectral comparison on a Hewlett Packard 6890 gas chromatograph equipped with either a Flame Ionisation Detector (GC-FID) or an Agilent 5973 Electronic Impact (70 eV) quadripole Mass Spectrometer (GC-MS). A standard qualitative bacterial acid methyl ester mix (Sigma) that ranged from C11 to C20, was used for the identification of sample FAME based on retention time.

The relative abundance of each fatty acid was used to compare the community structure between the samples. All fatty acids contributing less than 1% to the fatty acids pool were not considered in the analysis. Standard fatty acid nomenclature was used, as described previously in (Frostegård et al., 1993). Mono-unsaturated and cyclopropyl fatty acids (C16:1w9, C18:1w9c, C18:1w9t, cycC17:0, cycC19:0) were taken as Gram-negative bacterial biomarkers (Zelles, 1999), iso- and anteiso-fatty acids (iC15:0, aC15:0, iC16:0, iC17:0, aC17:0) as Gram-positive bacterial biomarkers (Zelles, 1999), C18:2w9,12 as a fungal biomarker (Frostegård et al., 1993; Zelles, 1997). PLFA profiles were first of all extracted from the different soils and from the microbial suspensions used for the inoculations in order to characterise the initial communities. Then, PLFA profiles were established for the inoculated soils after 56 days and at the end of the incubation (150 days).

2.6. Microbial metabolic capacities (BIOLOG Ecoplates™)

The metabolic profiles of the microbial communities were established using BIOLOG Ecoplates™ (Biolog Inc, USA), which contained 31 different C sources (carbohydrates, carboxylic acids, polymers, amino acids, amines and miscellaneous substrates) (Annexe C). The microbial communities were extracted from the soil cores by adding 180 ml ¼ strength Ringer solution to 20 g of soil and shaking for 30 min with glass beads. The bacterial suspension obtained was diluted to 10^{-4} in Ringer solution and aliquots (150 µl) were dispensed into each of the 96 wells of the BIOLOG Ecoplates™. The microplates were incubated in the dark at 20°C for 7 days and the colour development (due to the C utilisation) in each well was measured every day as the absorbance at 590 nm using the microplate reader SAFAS FLX-Xenius (SAFAS SA, Monaco). To characterise the inoculated communities, the metabolic capacities of the communities contained in the microbial suspensions used for the inoculation were determined in this way. Then, the metabolic capacities of the communities inoculated since 56 days in the different soils and at the end of the incubation were measured.

2.7. Mathematical model and statistical analyses

In order to distinguish the CO₂ produced during the mineralisation of the labile material released during sterilisation (i.e. dead bodies of microorganisms) from the CO₂ produced during the mineralisation of organic C unaffected by gamma radiation, we used a two-compartment, first-order model, given in equation 1, to describe the C mineralisation kinetics:

$$\text{C mineralised} = a \times (1 - \exp^{-\alpha \cdot t}) + b \times (1 - \exp^{-\beta \cdot t}) \quad (1)$$

where a is the mineralisable organic C pool released during the sterilisation (labile pool), α is the rate of mineralisation of the pool a , b is the mineralisable pool of organic C unaffected by the gamma radiation, β is the rate of mineralisation of the pool b and t is the time (days). The parameters describing the experimental cumulative mineralisation curves were estimated using the non-linear least squares procedure (nls) in R, version 2.14.0 (R Development Core Team, 2009. R: a language and environment for statistical computing.

Available at <http://www.Rproject.org>). The significance of differences among treatments in model parameters (a , b , α and β) were determined by two-way analysis of variance (ANOVA) (soil x community). Soil and community effects on microbial community structure (PLFA) and on microbial metabolic capacities (BIOLOG) were determined after ordination by Principal Components Analysis (PCA) using the “Vegan: Community Ecology Package” package in R version 2.14.0.

The SOC mineralisation for each community in each soil was expressed in mg C-CO₂.kg⁻¹ dry soil, caled as raw data (Fig. V.4), or in mg C-CO₂.g⁻¹ soil C (Fig. V.5), called as normalised data.

3. Results

3.1. Different habitats and initial microbial communities

At the incubation matric potential (-31.5 kPa) the volume of pores filled by water, and so accessible to soil microorganisms, corresponds to pores with maximum neck diameter between 0.3 and 9.5 μm . The volume of pores filled by air, and so used for gases diffusion, corresponds to pores with maximum neck diameter higher than 9.5 μm (Fig. V.1 and Fig. V.2).

The volume of pore accessible by microorganisms (filled by water) was significantly lower for the Podzol compared to the Forest Cambisol, the Organic Luvisol and the Bare fallow soil (ANOVA, $P < 0.01$) (Fig. V.2a). The volume of pore filled by air was significantly higher for the Forest Cambisol compared to the other soils except the Podzol (ANOVA, $P < 0.01$) (Fig. V.2b).

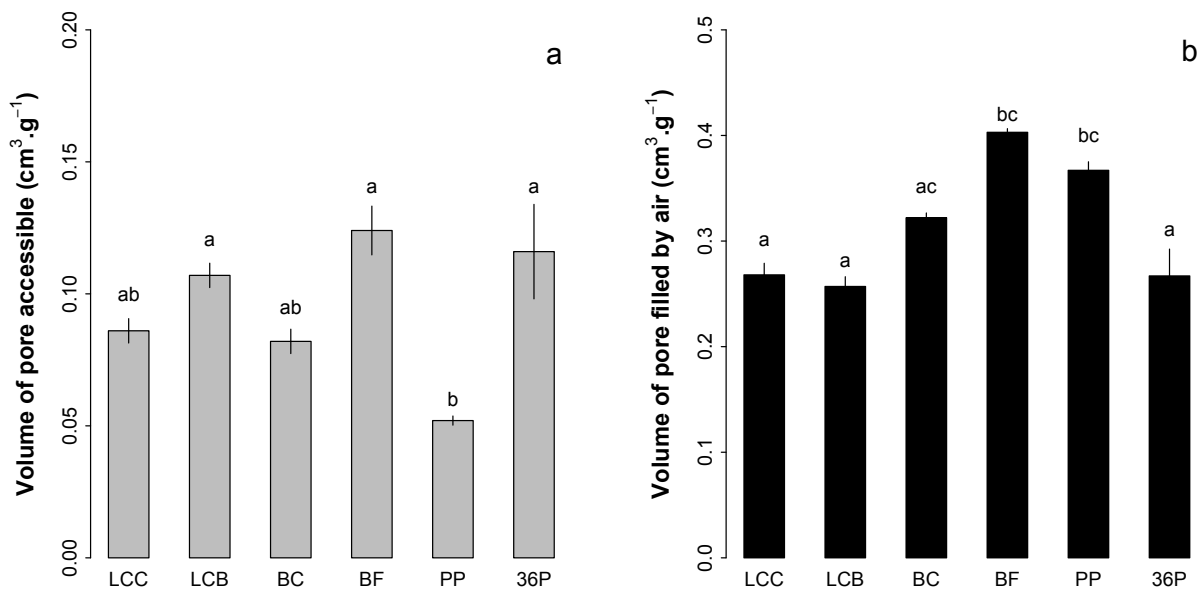


Figure V.2: Volume of pore accessible by microorganisms (a) and filled by air (b) at the incubation matric potential (-31.5 kPa). Values are expressed as $\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$. Error bars represent standard error (n=3). The different letters indicate significant differences between soils (ANOVA, $P < 0.01$).

Differences between microbial community structures extracted from the microbial suspensions and directly from soils are represented in figure V.3. This figure shows a significant difference along the first PC axis (ANOVA, $P < 0.001$) between microbial community structures extracted from the microbial suspensions and the soils, mainly due to the ubiquitous lipids (C16:0 and C18:0). Moreover, a higher variability for the microbial community structures extracted from the microbial suspensions was observed.

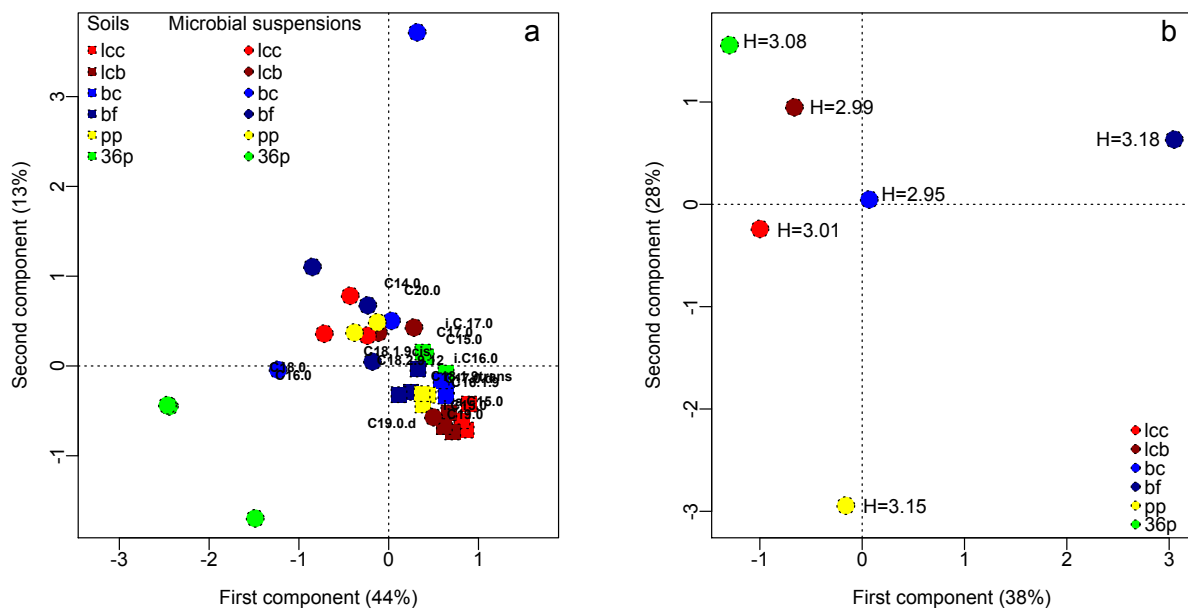


Figure V.3: Microbial communities inoculated characterisations. Principal Component Analysis (PCA) of phospholipid fatty acids (PLFA) profiles extracted from the different soils and from the different microbial suspensions (a) and Principal Component Analysis (PCA) of metabolic capacities with the Shannon Index (H) (b) are represented. Conventional Luvisol (lcc); Organic Luvisol (lcb); Cultivated Brunisol (bc); Forest Brunisol (bf); Podzol (pp); Bare Fallow (36p).

3.2. Soil organic carbon mineralisation

The raw mineralisation data (Fig. V.4) ranked the soils in the same order, regardless of microbial community (Forest Cambisol > Cultivated Cambisol > Podzol > Organic Luvisol > Conventional Luvisol > Bare Fallow soil). The temperate forest Cambisol (BF) samples mineralised approximately 5000 mg C-CO₂.kg⁻¹ dry soil whilst the values for the other soils ranged from 500 to 1500 mg C-CO₂.kg⁻¹ dry soil. The total amount of C mineralised was

significantly correlated to the organic C, N and OM contents of the soils as well as to the clay content, the C/N ratio, the CEC, and the microbial biomass.

In normalised data (Fig. V.5), for each community, the cumulative mineralisation was higher in the Organic Luvisol (LCB) and the Cultivated Cambisol (BC). Conversely, the cumulative mineralisation was lower in the Podzol (PP) and the Bare Fallow (36P). With normalised data, the order of the mineralisation curves among the soils was almost the same for each community, ranging between 50 and 90 mg C-CO₂.g⁻¹ soil C.

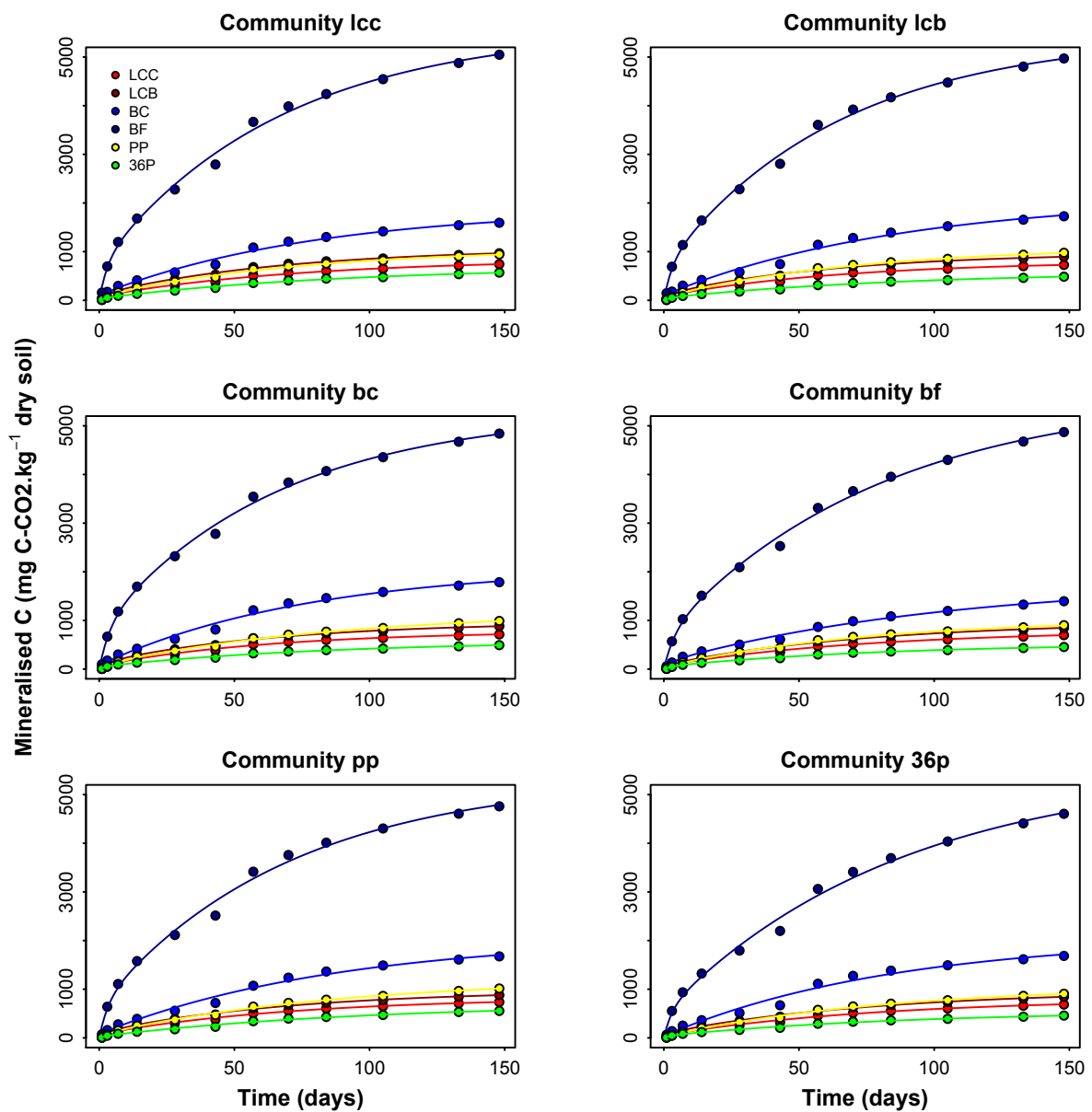


Figure V.4: Cumulative soil organic carbon mineralisation for the different communities (lcc = from Conventional Luvisol; lcb = from Organic Luvisol; bc = from Cultivated Brunisol; bf = from Forest Brunisol; pp = from Podzol; 36p = from Bare Fallow) in the different soils (Conventional Luvisol (LCC); Organic Luvisol (LCB); Cultivated

Brunisol (BC); Forest Brunisol (BF); Podzol (PP); Bare Fallow (36P)). Values are expressed as mg C-CO₂.kg⁻¹ dry soil equivalent. Error bars represent standard error (n=3).

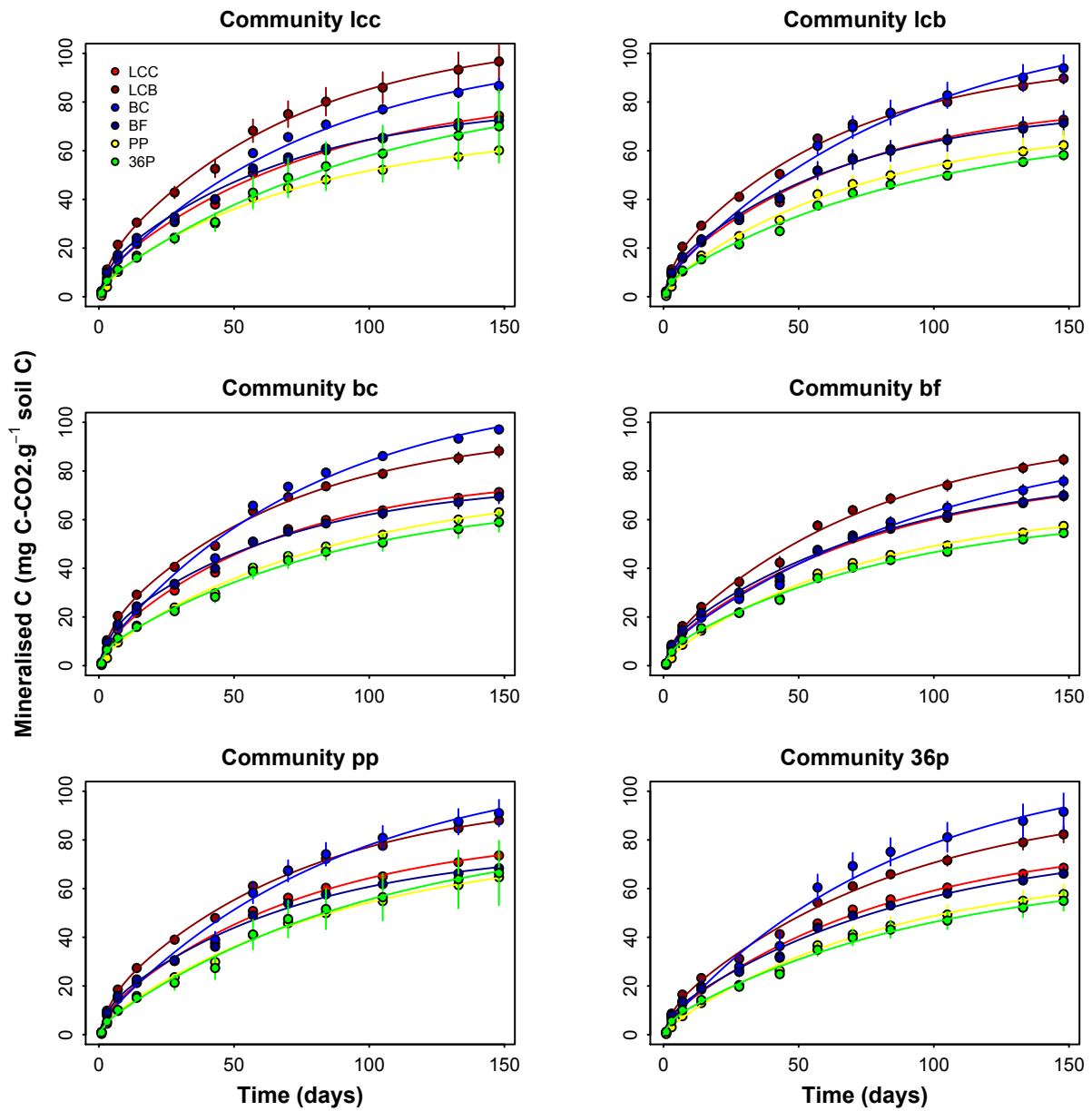


Figure V.5: Cumulative soil organic carbon mineralisation for the different communities (lcc = from Conventional Luvisol; lcb = from Organic Luvisol; bc = from Cultivated Brunisol; bf = from Forest Brunisol; pp = from Podzol; 36p = from Bare Fallow) in the different soils (Conventional Luvisol (LCC); Organic Luvisol (LCB); Cultivated Brunisol (BC); Forest Brunisol (BF); Podzol (PP); Bare Fallow (36P)). Values are expressed as mg C-CO₂.g⁻¹ soil C. Error bars represent standard error (n=3).

3.3. Model parameters

Using the raw data, all the parameters of the model (a , b , α and β) were significantly affected by the soil factor, and the labile pool a as well as the rate β were significantly affected by the community factor (Table V.2 and Fig. V.6). For the labile and native pools (a and b), the soil effect was essentially due to the forest Cambisol (BF), which had the higher C content. In BF, mean values of a and b parameters were 700 and 5000 mg C-CO₂.kg⁻¹ dry soil, respectively. For the rates α and β , the soil effect was due to the cultivated Cambisol (BC) and the bare fallow soil (36P). In both of these soils, rates α were higher and rates β lower than in the other soils. Concerning the microbial community factor effect observed for the pool a and the rate β , it was mainly due to the bare fallow microbial community (36p) (Fig. V.6).

Table V.2: Soil and community factors effects on the parameters derived from the model using raw and normalised data. These effect are significant when $P < 0.01$ (*) or no significant (n.s.).

Model's Parameters	Raw data		Normalised data	
	<i>Soil</i>	<i>Community</i>	<i>Soil</i>	<i>Community</i>
a	<0.001*	<0.01*	<0.001*	n.s.
b	<0.001*	n.s.	<0.001*	n.s.
α	<0.001*	n.s.	<0.001*	n.s.
β	<0.001*	<0.001*	<0.001*	<0.001*

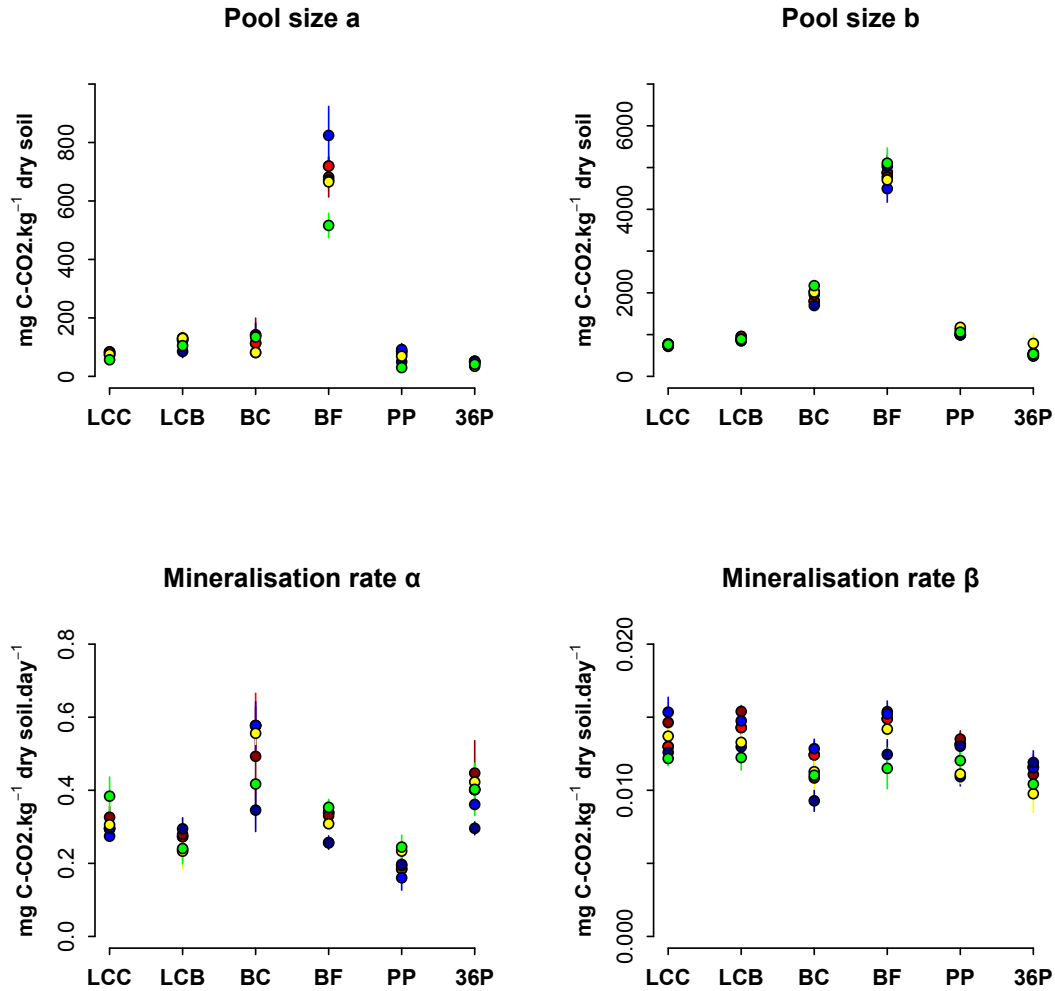


Figure V.6: Model's parameters on raw data for the different communities (lcc = from Conventional Luvisol; lcb = from Organic Luvisol; bc = from Cultivated Brunisol; bf = from Forest Brunisol; pp = from Podzol; 36p = from Bare Fallow) in the different soils (LCC = Conventional Luvisol; LCB = Organic Luvisol; BC = Cultivated Brunisol; BF = Forest Brunisol; PP = Podzol; 36P = Bare Fallow). The mineralisable organic carbon released during sterilisation pool (parameter a) and the mineralisable native organic carbon pool (parameter b) are expressed as mg C-CO₂.kg⁻¹ dry soil equivalent. The rate of the parameter a (α) and the rate of the parameter b (β) are expressed as mg C-CO₂.kg⁻¹ dry soil.day⁻¹. Error bars represent standard error (n=3).

The size of mineralisable pools (a and b) were highly correlated with organic C, organic N, C/N ratio, OM, CEC, clay content as well as with the microbial biomass measure as total PLFA content. The mineralisation rate of the labile pool (α) was positively correlated with pH, and clay content and negatively correlated with sand content. The rate of the native pool (β) was only negatively correlated with pH (Table V.3).

Table V.3: Correlation between soil characteristics and parameters derived from the model using raw and normalised data. Correlations are significant when $P < 0.01$ (*) or no significant (n.s.).

Soil characteristics	Model parameters							
	Raw data				Normalised data			
	a	b	α	β	a	b	α	β
C ($mg.g^{-1}$ soil)	R=0.97*	R=0.98*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
N ($mg.g^{-1}$ soil)	R=0.96*	R=1.00*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
C/N	R=0.87*	R=0.89*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
OM ($mg.g^{-1}$ soil)	R=0.97*	R=0.98*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CEC ($cmol^+. kg^{-1}$ soil)	R=0.86*	R=0.90*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
pH	n.s.	n.s.	R=0.79*	R=-0.54*	n.s.	n.s.	R=0.81*	R=-0.54*
Clay ($mg.g^{-1}$ soil)	R=0.64*	R=0.72*	R=0.62*	n.s.	n.s.	n.s.	R=0.61*	n.s.
Silt ($mg.g^{-1}$ soil)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Sand ($mg.g^{-1}$ soil)	n.s.	n.s.	R=-0.59*	n.s.	n.s.	n.s.	R=-0.59*	n.s.
Microbial biomass	R=0.94*	R=0.99*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Volume of pore filled by water ($cm^3.g^{-1}$)	R=0.53*	n.s.	n.s.	n.s.	R=0.52*	n.s.	n.s.	n.s.
Volume of pore filled by air ($cm^3.g^{-1}$)	R=0.70*	R=0.79*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

All the parameters of the models fitted to the normalised data were significantly affected by the soil factor, and only the rate constant β was significantly affected by microbial community (Table V.2 and Fig. V.7). The significant soil effect on the size of the labile pool (a) was due to the high values in the organic Luvisol (LCB) and the forest Cambisol (BF) (around 10 mg C-CO₂.g⁻¹ soil C); the effect on the native pool (b) it was due to the high values in the organic Luvisol (LCB) and cultivated Cambisol (BC) (around 100 mg C-CO₂.g⁻¹ soil C). The mineralisation rate constants α and β were significantly higher in the cultivated Cambisol (BC) and in the bare fallow soil (36P). The microbial communities from the bare fallow soil mineralised the SOM unaffected by gamma radiation at a lower rate (β) than did the other microbial communities (Fig. V.7).

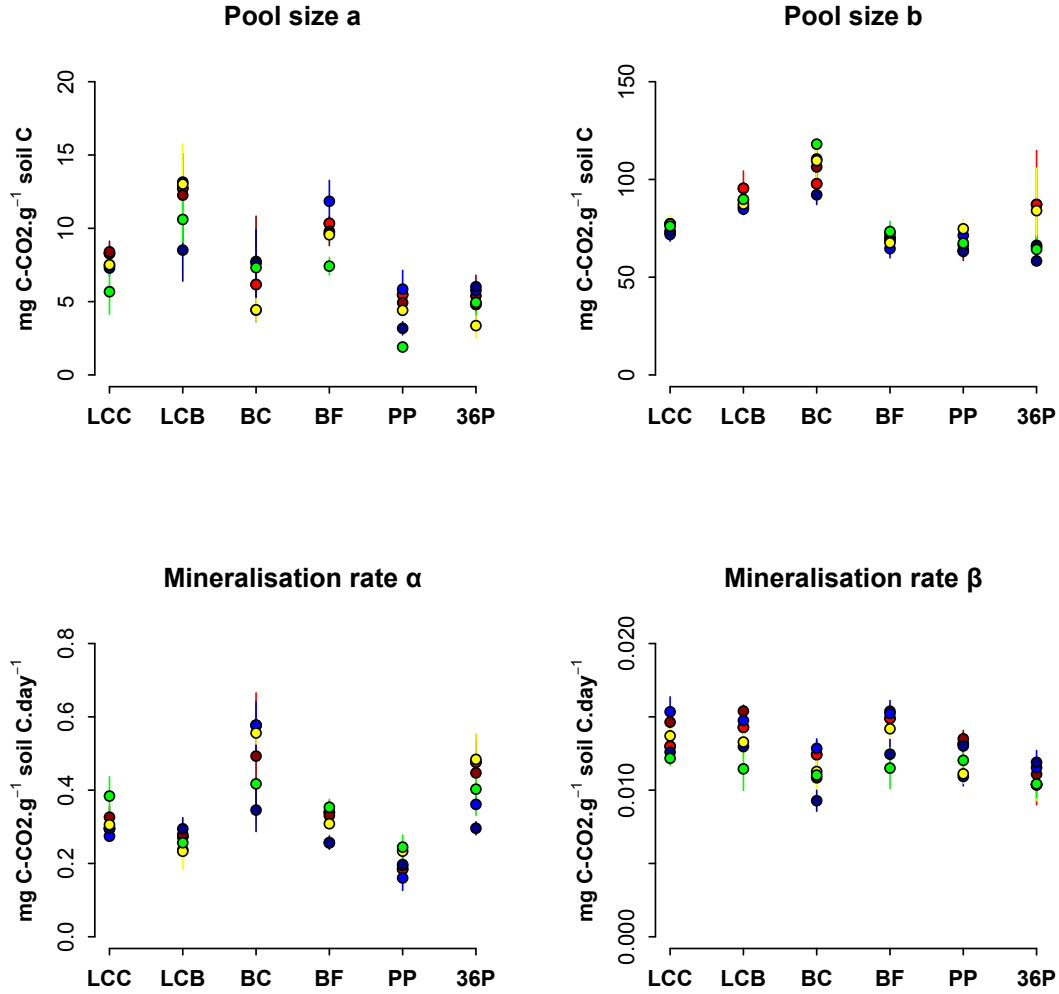


Figure V.7: Model's parameters after data carbon normalisation for the different communities (lcc = from Conventional Luvisol; lcb = from Organic Luvisol; bc = from Cultivated Brunisol; bf = from Forest Brunisol; pp = from Podzol; 36p = from Bare Fallow) in the different soils (LCC = Conventional Luvisol; LCB = Organic Luvisol; BC = Cultivated Brunisol; BF = Forest Brunisol; PP = Podzol; 36P = Bare Fallow). The mineralisable organic carbon released during sterilisation pool (parameter a) and the mineralisable native organic carbon pool (parameter b) are expressed as $\text{mg C-CO}_2\text{g}^{-1} \text{ soil C}$. The rate of the parameter a (α) and the rate of the parameter b (β) are expressed as $\text{mg C-CO}_2\text{g}^{-1} \text{ soil C.day}^{-1}$. Error bars represent standard error (n=3).

Moreover, as for raw data, the mineralisation rate of the labile pool (α) was positively correlated with the pH and clay content and negatively with sand content, the mineralisation rate of the native pool (β) was negatively correlated with the pH (Table V.3). The size of labile pool (a) was correlated with the volume of water-filled pores (Table V.3).

3.4. Microbial community structure (PLFA profiles)

Figure V.8 shows the principal components ordination graph of the PLFA profiles obtained after 56 days and at the end of the incubation. The microbial community structure differed significantly among soils after 56 days and at the end of the incubation. The differences were evident along both PCA axes (ANOVA, $P < 0.001$). After 56 days and at the end of the incubation the differences along the PC axes were due to the same lipids. The differences along the first PC axes were due to C15:0, C16:0 and C18:1w9t and the ones along the second PC axes were due to iC15:0, C18:0, C20:0. The fungal biomarker (C18:2w9,12) was also responsible of the differences along the second PC axis at day 56. The origin of the inoculated communities did not appear to have a significant effect on the microbial community structure at either day 56 or at the end of the incubation. Moreover, no significant difference in microbial community structure was observed between these dates.

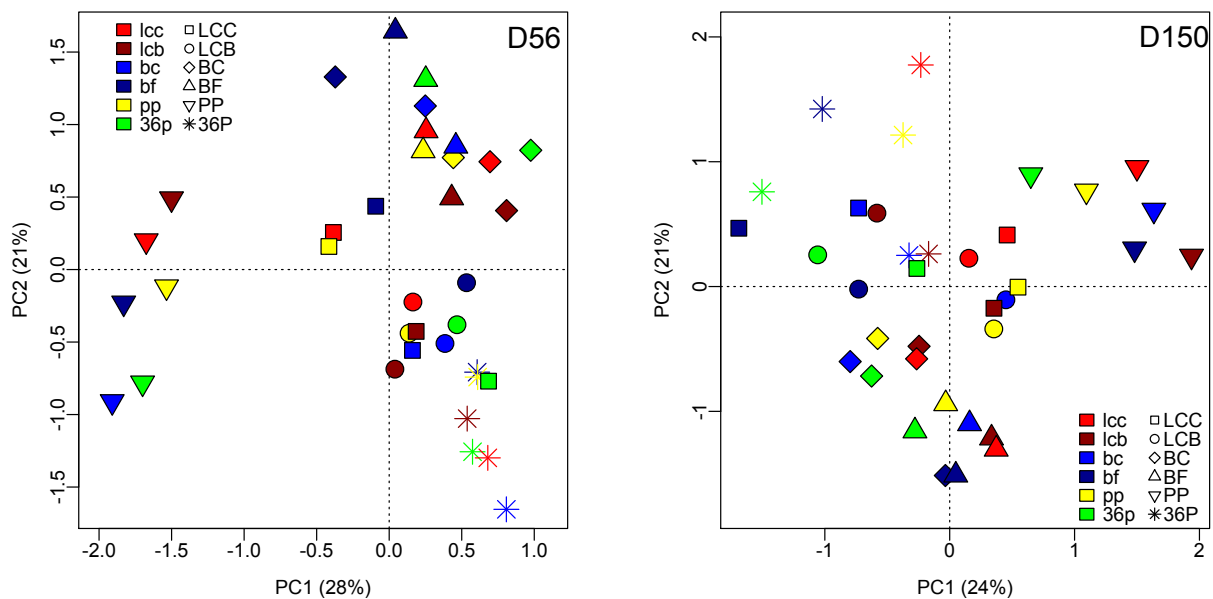


Figure V.8: Principal Component Analysis (PCA) of phospholipid fatty acids (PLFA) profiles after 56 days of incubation (on the left) and at the end of the incubation (on the right). The soils are represented with the different patterns filled by the name of the inoculated communities.

3.5. Microbial metabolic capacities (BIOLLOG Ecoplates™)

The metabolic profiles of the microbial communities differed significantly among soils and among communities of different origins after both 56 days and at the end of the incubation (Fig. V.9). The difference among soils was present along the first PC axis and the difference among communities of different origins showed along the second PC axis. The ANOVA indicated that the metabolic profiles in the LCC soil were significantly different from those in the other soils after 56 days of incubation, and that, at the end of the incubation the metabolic profiles in 36P soil were significantly different from those in the other soils. The differences among communities of different origins were due to the metabolic profile of the lcb communities being different from the communities after 56 days and, at the end of the incubation, due to the metabolic profiles of the bc and bf communities being different from the other communities.

The metabolic profiles of the microbial communities after 56 days of incubation were significantly different from those at the end of the incubation. In addition, the metabolic profiles of the initial microbial suspensions were significantly different from those observed after 56 days of incubation but were not different from the profiles obtained at the end of the incubation (data not shown).

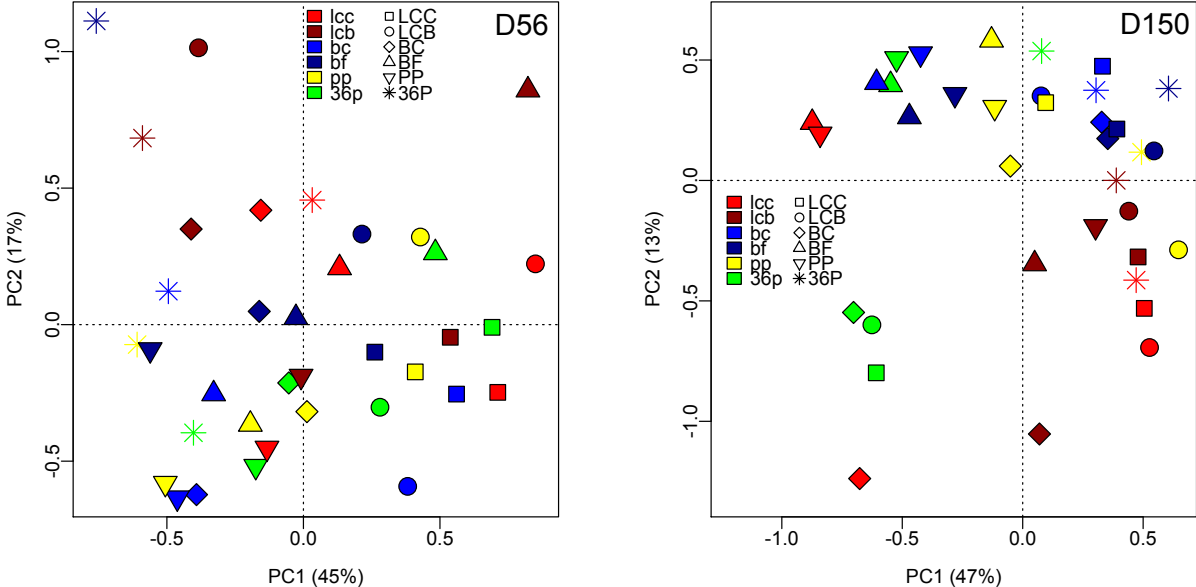


Figure V.9: Principal Component Analysis (PCA) of metabolic capacities after 56 days of incubation (on the left) and at the end of the incubation (on the right). The soils are represented with the different patterns filled by the name of the inoculated communities.

4. Discussion

The importance of microbial habitat properties relative to biological properties for SOC decomposition is not yet established. In this experiment, in order to differentiate microbial habitat effects from biotic ones crossing-inoculations were performed. Soils with different characteristics were sterilised by gamma radiations and then inoculated with bacterial suspensions previously extracted from the same non-sterile soils. So different inocula with different microbial community structures and different metabolic capacities were added to different sterile soils, corresponding to different habitats. The C decomposition activity of the initially same microbial communities in different habitats was monitored and then a partition of the biotic and abiotic properties was possible.

We have to keep in mind that in this experiment we used microbial extracts and so the response obtained does not correspond to the total microbial community, but to the one of the extractable community. This is because of the technical constraints of the extraction and cultivation of soil microorganisms. Moreover, we inoculated the microorganisms stochastically in the pore system filled by water at the incubation matric potential (-31.5 kPa).

The initial niche of the microorganisms may not correspond to the one where they were placed then.

In our experiment, microbial habitat was the dominant factor of SOC decomposition compared to the microbial community factor. Indeed, our results showed that the quantity and the biochemical quality of the OM as well as the characteristics of the microbial habitat could influence the OM decomposition whatever the soil microbial communities and their metabolic capacities. The biochemical quality of the OM and the physical properties of the microbial habitat are known to be controls of the SOM decomposition (Adair et al., 2008; Kleber, 2010), but it's not the case for their relative importance.

With mineralisation data expressed per unit mass of soil (raw data), a strong microbial habitat effect was observed on the mineralisation curves and so on the model's parameters. This soil effect was strongly correlated with C content, so in order to get free from these different C contents between the studied soils, data were C content normalised. The strong microbial habitat effect was still observed with data expressed per unit of soil C content (normalised data), suggesting that not only the abundance of C controlled mineralisation rates but also others factors such as the quality of the OM or other characteristics of the habitat. Looking at the normalised C mineralisation curves, two soils appeared to be the most favourable environments for C mineralisation: the organically managed cultivated Luvisol (LCB) and the cultivated Cambisol (BC). In these two cultivated and tilled soils, crop residues (wheat and colza respectively) were mixed to the soil by the tillage so are expected to be (i) easily accessible to soil decomposers and (ii) easily degradable because of their biochemical qualities (Gregorich et al., 2006). To comfort these hypotheses, we observed that the mineralisable native C pool size (*b*) had higher values in these same two soils, stating that soil microorganisms probably have a better accessibility to these two native C pools or that the native pool is more widely degraded because of its biochemical quality. Even if the initial microbial biomass was not as high in the cultivated Cambisol (BC) as in the organic Luvisol (LCB), the pool of labile C was more easily decomposable in the Cambisol, maybe because of the higher pH. Indeed a strong correlation was observed between the pH and the rate α . Although the native C pool in the BC soil was one of the highest, its mineralisation rate (β) was one of the lowest, reflecting a limited access for decomposers to this pool or a more complex biochemical quality. Native organic C in this clay soil could be occluded in clay

particles and so difficult to access for soil microorganism, however no correlation between rate β and clay content was observed.

Conversely, two other soils appeared to be the less favourable environments for C mineralisation: the Podzol (PP) and the bare fallow soil (36P). Even if oxygen and water diffusions as well as SOM accessibility to decomposers are presumed to be optimal in the Podzol because of a sandy texture, the pool a and the rate α were the slowest. The initial microbial biomass in this soil was one of the least abundant, and the obtained pool after the sterilisation was the least decomposable. Strong correlations were observed between the rate α and the pH as well as the texture (clay and sand content) and seem indicate that these two soil properties have an impact on the microbial activity. Because a microbial habitat effect was also observed for the microbial community structures and the metabolic capacities we can suggest that environmental conditions lead to similar microbial community structures and metabolic capacities whatever the initial inoculated community. In the case of the Podzol, the environmental conditions driving the community structure and the metabolic capacities could be the low pH and/or the sandy texture, which differentiate this soil from the others (Bååth et al., 1995; Johnson et al., 2003).

The C in the long-term bare fallow soil (36P) can be considered to be relatively stable because this soil had not received any fresh C for approximately 60 years (Barre et al., 2010). This OM is likely protected by micro-aggregation or by adsorption (Six et al., 2000), by its chemical recalcitrance (Lützow et al., 2006), or by the presence of CaCO_3 slowing down the C mineralisation (i.e. pH effect) (Fierer and Jackson, 2006; Baker et al., 2009; Frostegård et al., 2011). In the bare fallow soil the mineralisation rate of the native C pool (β) was the slowest, reinforcing the hypotheses about the protection from the degradation of the native C. In addition, the mineralisation rate of the C released during the sterilisation (α) was the highest (with those of BC), suggesting that the labile pool a from the bare fallow soil is easily degraded by the microorganisms. The initial microbial community from the bare fallow soil could be mostly composed by bacteria and then once sterilisation occurred liberated more labile C, than the other communities.

It is interesting to note that when organic substrate was plentiful (i.e. at the beginning of the incubation after the release of labile substrate due to the sterilisation), the soils with the

highest pH (BC and 36P) also exhibited the highest mineralisation rates of the labile pool (α). This difference was no longer apparent when the substrate supply decreased and the microbial communities were mineralising OM unaffected by the sterilisation. This suggests that pH affects microbial activity only when substrate supply is not constraining activity. Also, metabolic profiles seemed to be affected by a substrate supply because they varied among incubation time. Indeed, initial metabolic profiles (made on the inocula) were different from the one obtained after 56 days of incubation but the same that ones obtained at the end of the incubation. When microbial communities were inoculated to the soils, a large amount of labile C was available due to the sterilisation. Because of this easy degradable source of C, metabolic capacities may change explaining their evolution between the inocula and day 56. When this pool of labile C was consumed, the metabolic capacities may have returned to their initial pattern (inocula).

After normalisation a community effect was still observed for the rate of the mineralisable native C pool (β) but not for the mineralisable labile pool (α), suggesting that the rate β was affected by the quantity and biochemical quality of C and the pool α was only affected by the C quantity. This community effect on the rate β was mainly due to the bare fallow community (36p). Guenet et al., (2011) showed that a bare fallow soil microbial community easily used microbial products. Our results are in accordance with this because no inoculum effect was observed for the mineralisation rate of the C due to the sterilisation (α), probably mostly composed by microbial products, but was observed for the native C mineralisation rate (β). This microbial community (36p) coming from a soil where no OM was added for 60 years, likely kept its slow native C degradation capacities whatever the soil inoculated in. This suggests that there is a larger range of molecules in the OM from the other soils and that the community from the bare fallow doesn't have the capacity to degrade them. Indeed, in four soils (LCC, LCB, BF and 36P) the community extracted from the bare fallow mineralised the native OM more slowly than the other communities. For this community as well as for the others, it is interesting to note that in their original soil they were not specialised for their native SOC, invalidating the home field advantage hypothesis (Hunt et al., 1988). However, in these studies where the hypothesis was that decomposer communities are specialised to litter types characteristics of their ecosystem, the entire soil community was used and not only the microbial one (Gholz et al., 2000; Ayres et al., 2006).

5. Conclusion

Microbial activity of SOC decomposition seems to be more controlled by environmental conditions (such as pH, texture and also substrate supply) than by the microbial community structure or metabolic profiles. Microbial community structure was also controlled by the environmental conditions because independent of its origin. This confirms that soil microorganisms adapt their structure to environmental pressure (Fenchel and Finlay, 2004; Fierer and Jackson, 2006).

Future investigations are needed in order to determine if environmental conditions still govern microbial patterns at a finer microbiological scale (species level for example).

Conclusion générale

et

Perspectives

Ce travail de thèse, à l'interface entre la physique, la microbiologie des sols et la biogéochimie, visait à faire la part des régulations biotiques et abiotiques de la décomposition des MOS, afin de pouvoir prédire et anticiper le devenir du carbone des sols dans un contexte de changements climatiques et de changements de pratiques culturales. Nous souhaitons ainsi mieux comprendre et évaluer les mécanismes régulateurs de la dynamique des MOS, et plus précisément ceux liés d'une part à la structure du sol qui détermine les propriétés de l'habitat microbien, et d'autre part ceux liés aux communautés microbiennes elles mêmes (de par leur abondance, leur diversité et leur structure).

Pour ce faire, ont été mis en place des systèmes expérimentaux permettant de faire varier de façon indépendante ou simultanée:

- la structure du sol par des degrés de désagrégation plus ou moins importants,
- la diversité des communautés microbiennes par des dilutions successives de la communauté initiale,
- l'intégralité de l'environnement de différentes communautés microbiennes par des inoculations croisées.

Reprenons à présent les questions posées au début de cette étude et voyons quelles réponses ont pu être apportées grâce aux expérimentations effectuées, et quelles seraient les directions à prendre pour de futurs travaux.

Question 1: Quelle est l'importance relative de la structure du sol dans la décomposition des MOS?

La majorité des travaux portant sur l'impact de la structure du sol sur la dynamique des MOS, analysent l'impact direct de perturbations (ex. broyage, compaction) (e.g. Tisdall and Oades, 1982; Hassink, 1992; Balesdent et al., 2000; Salomé et al., 2010; Thomson et al., 2010). L'originalité de notre travail réside dans le fait d'avoir étudié l'impact de la structure sur la minéralisation du CO des sols, et ce en régime stationnaire. Ceci nous a permis de comparer les structures différentes générées en terme d'habitats différenciés. Les différents degrés de changement de structure imposés dans cette expérimentation, n'ont eu d'effet ni sur la minéralisation du carbone organique natif, ni sur celle du carbone apporté par les substrats. Cette absence d'effet de la structure du sol, malgré les différences d'environnements physiques observées, est vraisemblablement dû à notre système expérimental. En effet, dans notre étude les pores remplis d'eau (d'un diamètre maximal de 9,5 μm) n'ont pas été affectés par les modifications de structure puisque celles-ci n'ont été observées que jusqu'à une résolution de 13 μm . À un potentiel matriciel de -31,5 kPa et pour ce type de sol (sol limoneux), les contrôles des dynamiques du C des sols se déroulent donc à une échelle spatiale inférieure à 13 μm . Cette hypothèse est renforcée par l'étude de Franklin and Mills (2007) montrant que le rayon d'influence d'une cellule bactérienne sur un substrat est d'environ 10 μm . Les structures générées par nos manipulations expérimentales, ont apparemment garanti une aération suffisante des pores saturés en eau à pF 2,5. Dans ces conditions d'aération suffisante, les mécanismes qui réguleraient la dynamique du CO des sols se passeraient à des échelles très fines, d'où la nécessité de les inclure dans les modèles mécanistiques pour une meilleure prédiction (par exemple : adsorption, diffusion sur de petites distances).

Bien que le système expérimental n'ait pas permis d'étudier au mieux les effets des changements de structure, il ne faut pas perdre de vue que ce sol limoneux sensible à la battance fait régulièrement l'objet de telles modifications de structure. L'action des gouttes de pluie sur les agrégats de sol induit un réarrangement des particules rendant très compacte la couche superficielle : c'est la croûte de battance. La formation de cette croûte pourrait être comparée à notre modalité la plus déstructurée, la modalité dispersée. Ainsi, le maintien de la fonction de minéralisation observée dans ces environnements physiques différents pourrait s'expliquer par une adaptation des communautés microbiennes, qui rencontreraient de façon

occasionnelle de telles modifications de structure. Ceci nous amène à se demander si l'effet de la structure du sol serait le même pour des sols de texture et de teneur en MO différentes. On peut également se demander si en sollicitant des pores de diamètre plus important la réponse des communautés microbiennes serait identique face à ces mêmes perturbations de structure.

De plus le sol utilisé est un sol cultivé où l'abondance fongique est limitée (Henneron et al., Submitted). On peut donc supposer que cette même expérimentation avec un sol où l'abondance fongique serait nettement plus importante (par exemple dans le même sol sous SCV ou dans un sol forestier) aurait des résultats différents puisque les champignons grâce à leurs hyphes peuvent explorer un grand volume du réseau poral, et ainsi transloquer les MOS. Cette exploration fongique est fonction de la connectivité et de la tortuosité du réseau poral rempli d'air (Otten et al., 1999).

Question 2: Quelle est l'importance relative de la diversité microbienne dans la décomposition des MOS?
--

La plupart des études dans lesquelles la biodiversité a été érodée ne montrent pas d'impact significatif sur la minéralisation du CO des sols (Griffiths et al., 2000; Wertz et al., 2006). Les différents degrés de diversité imposés dans notre expérimentation ont eu des effets, faibles mais significatifs, sur la minéralisation du carbone organique natif et du carbone provenant des substrats apportés. Ces effets ne s'observent qu'à la diversité la plus faible suggérant un effet seuil. L'impact de l'érosion de la diversité sur la minéralisation des MO semble donc indiquer que la redondance fonctionnelle n'est pas toujours aussi importante que considérée jusqu'ici dans les études de la minéralisation des MOS.

Du fait que dans cette expérimentation l'effet de la diversité soit couplé à l'effet de la structure du sol, une hiérarchisation de ces mécanismes de régulation a été rendue possible. Certes petits, les effets de la diversité microbienne sur la minéralisation du carbone organique apparaissent plus importants que ceux de la structure du sol. Attention toutefois à ne pas perdre de vue que cette hiérarchisation est valable pour ce type de sol, pour ces conditions de potentiel matriciel (comme expliqué plus haut) et pour une diversité microbienne très faible.

Au vu des résultats obtenus, il serait à présent intéressant de déterminer les niveaux de diversité en dessous desquels la décomposition du carbone organique serait affectée, et ainsi identifier des niveaux seuil qui pourraient être dépendants des sols. Ce seuillage pourrait être amélioré via l'utilisation de techniques de la biologie moléculaire, plus fines dans l'analyse de la diversité.

Question 3 : Existe t-il une hiérarchie entre propriétés de l'habitat microbien et communautés microbiennes dans la régulation de la décomposition des MOS ?

La hiérarchisation des facteurs de régulation de la décomposition des MOS apparaît nécessaire pour améliorer la prédiction des modèles, puisque permettrait d'établir les variables à prendre en compte en priorité. L'activité microbienne de décomposition du carbone organique du sol semble plus contrôlée par les conditions environnementales (comme le pH, la texture et l'approvisionnement en substrat) que par la structure des communautés microbiennes ou les capacités métaboliques des microorganismes du sol.

L'effet communauté observé au cours de cette expérimentation est dû à une communauté microbienne en particulier, la communauté de la jachère nue de longue durée. Cette communauté très spécifique de son environnement et ce depuis près de 60 ans, s'est adaptée à une dégradation du carbone organique natif très lente du fait de l'absence d'apports exogènes. En effet, comme le suggère Ekschmitt et al. (2005), dans des conditions de « famine » les microorganismes régulent leur activité puisque l'acquisition des MOS leur coûte autant que ce la dégradation ne leur rapporte.

Pour renforcer les données obtenues sur la différenciation des communautés microbiennes inoculées, des analyses en TRFLP sont en cours. Ces données permettront une appréciation qualitative de la structure des communautés et de la diversité microbienne pour chacune des communautés inoculées.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Acosta-Martínez, V., Mikha, M.M., Vigil, M.F., 2007. Microbial communities and enzyme activities in soils under alternative crop rotations compared to wheat-fallow for the Central Great Plains. *Applied Soil Ecology* 37, 41–52.

Adair, E.C., Parton, W.J., Del Grosso, S.J., Silver, W.L., Harmon, M.E., Hall, S.A., Burke, I.C., Hart, S.C., 2008. Simple three-pool model accurately describes patterns of long-term litter decomposition in diverse climates. *Global Change Biology* 14, 2636–2660.

Adu, J.K., Oades, J.M., 1978. Physical factors influencing decomposition of organic materials in soil aggregates. *Soil Biology and Biochemistry* 10, 109–115.

Allison, S.D., 2005. Cheaters, diffusion and nutrients constrain decomposition by microbial enzymes in spatially structured environments. *Ecology Letters* 8, 626–635.

Allison, S.D., Martiny, J.B.H., 2008. Colloquium Paper: Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 11512–11519.

Amelung, W., Brodowski, S., Sandhage-Hofmann, A., Bol, R., 2008. Combining Biomarker with Stable Isotope Analyses for Assessing the Transformation and Turnover of Soil Organic Matter, in: Sparks, D.L. (Ed.), *Advances in Agronomy*, Vol 100. Elsevier Academic Press Inc, San Diego, 155–250.

Amezketta, E., 1999. Soil aggregate stability: A review. *Journal of Sustainable Agriculture* 14, 83–151.

Anderson, A.N., McBratney, A.B., FitzPatrick, E.A., 1996. Soil mass, surface, and spectral fractal dimensions estimated from thin section photographs. *Soil Science Society of America Journal* 60, 962–969.

Angers, D.A., Chenu, C., 1998. *Dynamics of soil aggregation and C sequestration*. CRC Press Inc., Boca Raton, USA.

Attard, E., Recous, S., Chabbi, A., De Berranger, C., Guillaumaud, N., Labreuche, J., Philippot, L., Schmid, B., 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, 1975–1989.

Aylmore, L., 1993. Use of Computer-Assisted Tomography in Studying Water-Movement Around Plant-Roots. *Advances in Agronomy* 49, 1–54.

Ayres, E., Dromph, K.M., Bardgett, R.D., 2006. Do plant species encourage soil biota that specialise in the rapid decomposition of their litter? *Soil Biology and Biochemistry* 38, 183–186.

B

Bååth, E., Anderson, T.-H., 2003. Comparison of soil fungal/bacterial ratios in a pH gradient using physiological and PLFA-based techniques. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 955–963.

Bååth, E., Frostegård, Å., Pennanen, T., Fritze, H., 1995. Microbial community structure and pH response in relation to soil organic matter quality in wood-ash fertilized, clear-cut or burned coniferous forest soils. *Soil Biology and Biochemistry* 27, 229–240.

Bachelier, G., 1978. *La Faune des sols: son écologie et son action*. Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer.

Baker, K.L., Langenheder, S., Nicol, G.W., Ricketts, D., Killham, K., Campbell, C.D., Prosser, J.I., 2009. Environmental and spatial characterisation of bacterial community composition in soil to inform sampling strategies. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 2292–2298.

Balabane, M., Chenu, C., Bureau, F., Decaens, T., Akpa, M., Hedde, M., Laval, K., Puget, P., Pawlak, B., Barray, S., Cluzeau, D., Labreuche, D., Bodet, J., Le Bissonnais, Y., Saulas, P., Bertrand, M., Guichard, L., Picard, D., Houot, S., Arrouays, D., Brygoo, Y., 2005. Restauration de fonctions et propriétés des sols de grande culture intensive. Effets de systèmes de culture alternatifs sur les matières organiques et la structure des sols limoneux et approche du rôle fonctionnel de la diversité biologique des sols (Dmostra) (Fonctions Environnementales des Sols et Gestion du Patrimoine Sol No. Gestion Durable des Sols, GESSOL N° A01494).

Balesdent, J., Besnard, E., Arrouays, D., Chenu, C., 1998. The dynamics of carbon in particle-size fractions of soil in a forest-cultivation sequence. *Plant and Soil* 201, 49–57.

Balesdent, J., Chenu, C., Balabane, M., 2000. Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. *Soil and Tillage Research* 53, 215–230.

Bardgett, R.D., Bowman, W.D., Kaufmann, R., Schmidt, S.K., 2005. A temporal approach to linking aboveground and belowground ecology. *Trends in Ecology and Evolution* 20, 634–641.

Bardgett, R.D., Freeman, C., Ostle, N.J., 2008. Microbial contributions to climate change through carbon cycle feedbacks. *Isme Journal* 2, 805–814.

Barre, P., Eglin, T., Christensen, B.T., Ciais, P., Houot, S., Katterer, T., van Oort, F., Peylin, P., Poulton, P.R., Romanenkov, V., Chenu, C., 2010. Quantifying and isolating stable soil organic carbon using long-term bare fallow experiments. *Biogeosciences* 7, 3839–3850.

Bartoli, F., Genevois-Gomendy, V., Royer, J.J., Niquet, S., Vivier, H., Grayson, R., 2005. A multiscale study of silty soil structure. *European Journal of Soil Science* 56, 207–224.

Baumann, K., Dignac, M.-F., Rumpel, C., Bardoux, G., Sarr, A., Steffens, M., Maron, P.-A., 2012. Soil microbial diversity affects soil organic matter decomposition in a silty grassland soil. *Biogeochemistry* 1–12.

Baveye, P.C., Laba, M., Otten, W., Bouckaert, L., Dello Sterpaio, P., Goswami, R.R., Grinev, D., Houston, A., Hu, Y., Liu, J., Mooney, S., Pajor, R., Sleutel, S., Tarquis, A., Wang, W., Wei, Q., Sezgin, M., 2010. Observer-dependent variability of the thresholding step in the quantitative analysis of soil images and X-ray microtomography data. *Geoderma* 157, 51–63.

Baveye, P.C., Rangel, D., Jacobson, A.R., Laba, M., Darnault, C., Otten, W., Radulovich, R., Camargo, F.A.O., 2011. From Dust Bowl to Dust Bowl: Soils are Still Very Much a Frontier of Science. *Soil Science Society of America Journal* 75, 2037–2048.

Bell, T., Newman, J.A., Silverman, B.W., Turner, S.L., Lilley, A.K., 2005. The contribution of species richness and composition to bacterial services. *Nature* 436, 1157–1160.

Berns, A.E., Philipp, H., Narres, H.-D., Burauel, P., Vereecken, H., Tappe, W., 2008. Effect of gamma-sterilization and autoclaving on soil organic matter structure as studied by solid state NMR, UV and fluorescence spectroscopy. *European Journal of Soil Science* 59, 540–550.

Beylich, A., Oberholzer, H.-R., Schrader, S., Hoeper, H., Wilke, B.-M., 2010. Evaluation of soil compaction effects on soil biota and soil biological processes in soils. *Soil and Tillage Research* 109, 133–143.

C

- Calvet, R., 2003. *Le sol: propriétés et fonctions*. France Agricole Editions.
- Cardinale, B.J., Srivastava, D.S., Duffy, J.E., Wright, J.P., Downing, A.L., Sankaran, M., Jouseau, C., 2006. Effects of biodiversity on the functioning of trophic groups and ecosystems. *Nature* 443, 989–992.
- Carson, J.K., Gonzalez-Quinones, V., Murphy, D.V., Hinz, C., Shaw, J.A., Gleeson, D.B., 2010. Low pore connectivity increases bacterial diversity in soil. *Applied Environmental Microbiology* 76, 3936–3942.
- Chander, K., Klein, T., Eberhardt, U., Joergensen, R., 2002. Decomposition of carbon-14-labelled wheat straw in repeatedly fumigated and non-fumigated soils with different levels of heavy metal contamination. *Biology and Fertility of Soils* 35, 86–91.
- Chaparro, J.M., Sheflin, A.M., Manter, D.K., Vivanco, J.M., 2012. Manipulating the soil microbiome to increase soil health and plant fertility. *Biology and Fertility of Soils* 48, 489–499.
- Chapin III, F.S., Zavaleta, E.S., Eviner, V.T., Naylor, R.L., Vitousek, P.M., Reynolds, H.L., Hooper, D.U., Lavorel, S., Sala, O.E., Hobbie, S.E., Mack, M.C., Diaz, S., 2000. Consequences of changing biodiversity. *Nature* 405, 234–242.
- Chenu, C., Hassink, J., Bloem, J., 2001. Short-term changes in the spatial distribution of microorganisms in soil aggregates as affected by glucose addition. *Biology and Fertility of Soils* 34, 349–356.
- Chenu, C., Plante, A.F., 2006. Clay-sized organo-mineral complexes in a cultivation chronosequence: revisiting the concept of the “primary organo-mineral complex”. *European Journal of Soil Science* 57, 596–607.
- Chenu, C., Stotsky, G., 2002. Interactions between microorganisms and soil particles : An overview. *Applied Geochemistry IUPAC Serie of Applied Geochemistry*, 3–40.
- Cookson, W.R., Murphy, D.V., Roper, M.M., 2008. Characterizing the relationships between soil organic matter components and microbial function and composition along a tillage disturbance gradient. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 763–777.
- Corbeels, M., Scopel, E., Cardoso, A., Bernoux, M., Douzet, J.-M., Neto, M.S., 2006. Soil carbon storage potential of direct seeding mulch-based cropping systems in the Cerrados of Brazil. *Global Change Biology* 12, 1773–1787.

Coucheney, E., Daniell, T.J., Chenu, C., Nunan, N., 2008. Gas chromatographic metabolic profiling: A sensitive tool for functional microbial ecology. *Journal of Microbiological Methods* 75, 491–500.

D

Davinic, M., Fultz, L.M., Acosta-Martinez, V., Calderón, F.J., Cox, S.B., Dowd, S.E., Allen, V.G., Zak, J.C., Moore-Kucera, J., 2012. Pyrosequencing and mid-infrared spectroscopy reveal distinct aggregate stratification of soil bacterial communities and organic matter composition. *Soil Biology and Biochemistry* 46, 63–72.

De Gryze, S., Jassogne, L., Six, J., Bossuyt, H., Wevers, M., Merckx, R., 2006. Pore structure changes during decomposition of fresh residue: X-ray tomography analyses. *Geoderma* 134, 82–96.

De Neve, S., Hofman, G., 2000. Influence of soil compaction on carbon and nitrogen mineralization of soil organic matter and crop residues. *Biology and Fertility of Soils* 30, 544–549.

DeAngelis, K.M., Lindow, S.E., Firestone, M.K., 2008. Bacterial quorum sensing and nitrogen cycling in rhizosphere soil. *FEMS Microbiology Ecology* 66, 197–207.

Degens, B.P., 1998. Decreases in microbial functional diversity do not result in corresponding changes in decomposition under different moisture conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 30, 1989–2000.

Degens, B.P., Schipper, L.A., Sparling, G.P., Duncan, L.C., 2001. Is the microbial community in a soil with reduced catabolic diversity less resistant to stress or disturbance? *Soil Biology and Biochemistry* 33, 1143–1153.

Denman, K., Brasseur, G., Chidthaisong, A., Ciais, P., Cox, P., Dickinson, R., Hauglustaine, D., Heinze, C., Holland, E., Jacob, D., Lohmann, U., Ramachandran, S., Da Silva Dias, P., Wofsy, S., Zhang, X., 2007. Couplings between changes in the climate system and biogeochemistry. In: Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M., Averyt, K.B., Tignor, M., Miller, H.L. (Eds.), *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, New York.

Dexter, A., 1988. Advances in Characterization of Soil Structure. *Soil and Tillage Research* 11, 199–238.

Díaz-Zorita, M., Perfect, E., Grove, J., 2002. Disruptive methods for assessing soil structure. *Soil and Tillage Research* 64, 3–22.

Drees, L.R., Wilding, L.P., Karathanasis, A.D., Blevins, R.L., 1994. Micromorphological Characteristics of Long-Term No-Till and Conventionally Tilled Soils. *Soil Science Society of America Journal* 58, 508–517.

Dungait, J.A.J., Hopkins, D.W., Gregory, A.S., Whitmore, A.P., 2012. Soil organic matter turnover is governed by accessibility not recalcitrance. *Global Change Biology* 18, 1781–1796.

E

Edwards, C.A., 2002. Assessing the effects of environmental pollutants on soil organisms, communities, processes and ecosystems. *European Journal of Soil Biology* 38, 225–231.

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, 167–176.

Elfstrand, S., Lagerlöf, J., Hedlund, K., Mårtensson, A., 2008. Carbon routes from decomposing plant residues and living roots into soil food webs assessed with ¹³C labelling. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 2530–2539.

F

Falconer, R.E., Houston, A.N., Otten, W., Baveye, P.C., 2012. Emergent Behavior of Soil Fungal Dynamics: Influence of Soil Architecture and Water Distribution. *Soil Science* 177, 111–119.

Feeney, D., Crawford, J., Daniell, T., Hallett, P., Nunan, N., Ritz, K., Rivers, M., Young, I., 2006. Three-dimensional Microorganization of the Soil–Root–Microbe System. *Microbial Ecology* 52, 151–158.

Fenchel, T., Finlay, B.J., 2004. The ubiquity of small species: Patterns of local and global diversity. *Bioscience* 54, 777–784.

Fernández, R., Quiroga, A., Zorati, C., Noellemeyer, E., 2010. Carbon contents and respiration rates of aggregate size fractions under no-till and conventional tillage. *Soil and Tillage Research* 109, 103–109.

Fierer, N., Bradford, M., Jackson, R., 2007. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology* 88, 1354–1364.

Fierer, N., Jackson, R.B., 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103, 626–631.

Fontaine, S., Bardoux, G., Abbadie, L., Mariotti, A., 2004. Carbon input to soil may decrease soil carbon content. *Ecology Letters* 7, 314–320.

Foster, R.C., 1988. Microenvironments of soil microorganisms. *Biology and Fertility of Soils* 6, 189–203.

Franklin, R.B., Mills, A.L., 2007. *The Spatial Distribution of Microbes in the Environment*. Springer.

Franzluebbers, A., Arshad, M., 1997. Soil microbial biomass and mineralizable carbon of water-stable aggregates. *Soil Science Society of America Journal* 61, 1090–1097.

Franzluebbers, A.J., 1999. Microbial activity in response to water-filled pore space of variably eroded southern Piedmont soils. *Applied Soil Ecology* 11, 91–101.

Franzluebbers, A.J., 2005. Soil organic carbon sequestration and agricultural greenhouse gas emissions in the southeastern USA. *Soil and Tillage Research* 83, 120–147.

Franzluebbers, A.J., Haney, R.L., Honeycutt, C.W., Schomberg, H.H., Hons, F.M., 2000. Flush of Carbon Dioxide Following Rewetting of Dried Soil Relates to Active Organic Pools. *Soil Science Society of America Journal* 64, 613–623.

Frey, S., Elliott, E., Paustian, K., 1999. Bacterial and fungal abundance and biomass in conventional and no-tillage agroecosystems along two climatic gradients. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 573–585.

Frostegård, A., Bååth, E., 1996. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology and Fertility of Soils* 22, 59–65.

Frostegård, A., Bååth, E., Tunlid, A., 1993. Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty-acid analysis. *Soil Biology and Biochemistry* 25, 723–730.

Frostegård, A., Tunlid, A., Bååth, E., 2011. Use and misuse of PLFA measurements in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1621–1625.

G

Gaillard, V., Chenu, C., Recous, S., Richard, G., 1999. Carbon, nitrogen and microbial gradients induced by plant residues decomposing in soil. *European Journal of Soil Science* 50, 567–578.

Gans, J., Wolinsky, M., Dunbar, J., 2005. Computational Improvements Reveal Great Bacterial Diversity and High Metal Toxicity in Soil Science 309, 1387–1390.

Garcia-Pausas, J., Paterson, E., 2011. Microbial community abundance and structure are determinants of soil organic matter mineralisation in the presence of labile carbon. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1705–1713.

Gelsomino, A., Keijzer-Wolters, A.C., Cacco, G., van Elsas, J.D., 1999. Assessment of bacterial community structure in soil by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis. *Journal of Microbiological Methods* 38, 1–15.

Gholz, H.L., Wedin, D.A., Smitherman, S.M., Harmon, M.E., Parton, W.J., 2000. Long-term dynamics of pine and hardwood litter in contrasting environments: toward a global model of decomposition. *Global Change Biology* 6, 751–765.

Girardin, C., Rasse, D.P., Biron, P., Ghashghaie, J., Chenu, C., 2009. A method for ¹³C-labeling of metabolic carbohydrates within French bean leaves (*Phaseolus vulgaris* L.) for decomposition studies in soils. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 23, 1792–1800.

Gobat, J.M., Aragno, M., Matthey, W., 2004. The living soil: fundamentals of soil science and soil biology. Science Publishers, Inc., Enfield, USA.

Gonod, L.V., Chenu, C., Soulas, G., 2003. Spatial variability of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) mineralisation potential at a millimetre scale in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 373–382.

Grandy, A., Robertson, G., 2007. Land-Use Intensity Effects on Soil Organic Carbon Accumulation Rates and Mechanisms. *Ecosystems* 10, 59–74.

Gregorich, E., Kachanoski, R., Voroney, R., 1989. Carbon Mineralization in Soil Size Fractions After Various Amounts of Aggregate Disruption. *Journal of Soil Science* 40, 649–659.

Gregorich, E.G., Rochette, P., Hopkins, D.W., McKim, U.F., St-Georges, P., 2006. Tillage-induced environmental conditions in soil and substrate limitation determine biogenic gas production. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 2614–2628.

Griffiths, B., Ritz, K., Wheatley, R., Kuan, H., Boag, B., Christensen, S., Ekelund, F., Sorensen, S., Muller, S., Bloem, J., 2001. An examination of the biodiversity-ecosystem function relationship in arable soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* 33, 1713–1722.

Griffiths, B., Bonkowski, M., Roy, J., Ritz, K., 2001. Functional stability, substrate utilisation and biological indicators of soils following environmental impacts. *Applied Soil Ecology* 16, 49–61.

Griffiths, B.S., Ritz, K., Bardgett, R.D., Cook, R., Christensen, S., Ekelund, F., Sørensen, S.J., Bååth, E., Bloem, J., Ruiter, P.C. de, Dolfing, J., Nicolardot, B., 2000. Ecosystem response of pasture soil communities to fumigation-induced microbial diversity reductions: an examination of the biodiversity-ecosystem function relationship. *Oikos* 90, 279–294.

Groffman, P.M., Hanson, G.C., Kiviat, E., Stevens, G., 1996. Variation in microbial biomass and activity in four different wetland types. *Soil Science Society of America Journal* 60, 622–629.

Grundmann, G.L., 2004. Spatial scales of soil bacterial diversity - the size of a clone. *FEMS Microbiology Ecology* 48, 119–127.

Guenet, B., Juarez, S., Bardoux, G., Abbadie, L., Chenu, C., 2012. Evidence that stable C is as vulnerable to priming effect as is more labile C in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 52, 43–48.

Guenet, B., Juarez, S., Bardoux, G., Pouteau, V., Cheviron, N., Marraud, C., Abbadie, L., Chenu, C., 2011. Metabolic capacities of microorganisms from a long-term bare fallow. *Applied Soil Ecology* 51, 87–93.

Guo, L.B., Gifford, R.M., 2002. Soil carbon stocks and land use change: a meta analysis. *Global Change Biology* 8, 345–360.

Gupta, V., Germida, J.J., 1988. Distribution of microbial biomass and its activity in different soil aggregate size classes as affected by cultivation. *Soil Biology and Biochemistry* 20, 777–786.

H

Hapca, S.M., Houston, A., Otten, W., Baveye, P.C., 2012. New objective segmentation method based on minimizing locally the intra-class variance of greyscale images. Submitted to *Vadose Zone Journal*.

Harris, K., Young, I.M., Gilligan, C.A., Otten, W., Ritz, K., 2003. Effect of bulk density on the spatial organisation of the fungus *Rhizoctonia solani* in soil. *FEMS Microbiology Ecology* 44, 45–56.

Hassink, J., 1992. Effects of soil texture and structure on carbon and nitrogen mineralization in grassland soils. *Biology and Fertility of Soils* 14, 126–134.

Hattori, T., 1988. Soil aggregates as microhabitats of microorganisms. *Reports of the Institute for Agricultural Research, Tohoku University* 37.

Hector, A., Schmid, B., Beierkuhnlein, C., Caldeira, M.C., Diemer, M., Dimitrakopoulos, P.G., Finn, J.A., Freitas, H., Giller, P.S., Good, J., Harris, R., Högborg, P., Huss-Danell, K., Joshi, J., Jumpponen, A., Körner, C., Leadley, P.W., Loreau, M., Minns, A., Mulder, C.P.H., O'Donovan, G., Otway, S.J., Pereira, J.S., Prinz, A., Read, D.J., Scherer-Lorenzen, M., Schulze, E.-D., Siamantziouras, A.-S.D., Spehn, E.M., Terry, A.C., Troumbis, A.Y., Woodward, F.I., Yachi, S., Lawton, J. H., 1999. Plant Diversity and Productivity Experiments in European Grasslands. *Science* 286, 1123–1127.

Henneron, L., Bernard, L., Hedde, M., Pelosi, C., Villenave, C., Chenu, C., Bertrand, M., Girardin, C., Blanchart, E., Submitted. Long-term enhancement effect of conservation and organic cropping systems on soil biota in northern France - Implication for assessing the effect of alternative farming systems on soil quality. *Agriculture, Ecosystems and Environment*.

Herbst, M., Prolingheuer, N., Graf, A., Huisman, J.A., Weihermuller, L., Vanderborght, J., 2009. Characterization and Understanding of Bare Soil Respiration Spatial Variability at Plot Scale. *Vadose Zone J* 8, 762–771.

Hill, G.T., Mitkowski, N.A., Aldrich-Wolfe, L., Emele, L.R., Jurkonie, D.D., Ficke, A., Maldonado-Ramirez, S., Lynch, S.T., Nelson, E.B., 2000. Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. *Applied Soil Ecology* 15, 25–36.

Hobbie, S.E., Schimel, J.P., Trumbore, S.E., Randerson, J.R., 2000. Controls over carbon storage and turnover in high-latitude soils. *Global Change Biology* 6, 196–210.

Högborg, M.N., Högborg, P., Myrold, D.D., 2007. Is microbial community composition in boreal forest soils determined by pH, C to N ratio, the trees, or all three? *Oecologia* 150, 590–601.

Houghton, R.A., 2003. Revised estimates of the annual net flux of carbon to the atmosphere from changes in land use and land management 1850-2000. *Tellus B* 55, 378–390.

Hu, S., Chapin, F.S., Firestone, M.K., Field, C.B., Chiariello, N.R., 2001. Nitrogen limitation of microbial decomposition in a grassland under elevated CO₂. *Nature* 409, 188–191.

Hunt, H., Ingham, E., Coleman, D., Elliott, E., Reid, C., 1988. Nitrogen Limitation of Production and Decomposition in Prairie, Mountain Meadow, and Pine Forest. *Ecology* 69, 1009–1016.

I-J

Ingham, E., Coleman, D., 1984. Effects of Streptomycin, Cycloheximide, Fungizone, Captan, Carbofuran, Cygon, and Pcnb on Soil Microorganisms. *Microbial Ecology* 10, 345–358.

Jain, A.K., Yang, X.J., 2005. Modeling the effects of two different land cover change data sets on the carbon stocks of plants and soils in concert with CO₂ and climate change. *Global Biogeochemical Cycles* 19.

Jenkinson, D., Rayner, J., 1977. Turnover of Soil Organic Matter in Some of Rothamsted Classical Experiments. *Soil Science* 123, 298–305.

Jenkinson, D.S., Coleman, K., 2008. The turnover of organic carbon in subsoils. Part 2. Modelling carbon turnover. *European Journal of Soil Science* 59, 400–413.

Jocteur Monrozier, L., Guez, P., Chalamet, A., Bardin, R., Martins, J., Gaudet, J.P., 1993. Distribution of microorganisms and fate of xenobiotic molecules in unsaturated soil environments. *Science of the total environment* 136, 121–133.

Johnson, M.J., Lee, K.Y., Scow, K.M., 2003. DNA fingerprinting reveals links among agricultural crops, soil properties, and the composition of soil microbial communities. *Geoderma* 114, 279–303.

Joschko, M., Muller, P., Kotzke, K., Dohring, W., Larink, O., 1993. Earthworm Burrow System-Development Assessed by Means of X-Ray Computed-Tomography. *Geoderma* 56, 209–221.

K

Kandeler, E., Palli, S., Stemmer, M., Gerzabek, M.H., 1999. Tillage changes microbial biomass and enzyme activities in particle-size fractions of a Haplic Chernozem. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 1253–1264.

Kemmitt, S.J., Lanyon, C.V., Waite, I.S., Wen, Q., Addiscott, T.M., Bird, N.R.A., O'Donnell, A.G., Brookes, P.C., 2008. Mineralization of native soil organic matter is not regulated by the size, activity or composition of the soil microbial biomass - a new perspective. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 61–73.

Kilbertus, G., 1980. Study of Microhabitats in Soil Aggregates - Relation to Bacterial Biomass and Size of Procaryotes. *Revue d'Ecologie et de Biologie Du Sol* 17, 543–557.

Killham, K., Amato, M., Ladd, J.N., 1993. Effect of substrate location in soil and soil pore-water regime on carbon turnover. *Soil Biology and Biochemistry* 25, 57–62.

Kirschbaum, M.U.F., 2000. Will changes in soil organic carbon act as a positive or negative feedback on global warming? *Biogeochemistry* 48, 21–51.

Kleber, M., 2010. Minerals and carbon stabilization: towards a new perspective of mineralorganic interactions in soils. *Proceedings of the 19th World Congress of Soil Science: Soil solutions for a changing world, Brisbane, Australia, 1-6 August 2010. Symposium 2.4.1 Soil minerals and sustainability.*

Kong, A.Y.Y., Scow, K.M., Córdova-Kreylos, A.L., Holmes, W.E., Six, J., 2011. Microbial community composition and carbon cycling within soil microenvironments of conventional, low-input, and organic cropping systems. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 20–30.

Kravchenko, A., Falconer, R.E., Grinev, D., Otten, W., 2011. Fungal colonization in soils with different management histories: modelling growth in three-dimensional pore volumes. *Ecological Applications* 21, 1202–1210.

L

Ladd, J., Foster, R., Skjemstad, J., 1993. Soil Structure - Carbon and Nitrogen-Metabolism. *Geoderma* 56, 401–434.

Ladd, J.N., Foster, R.C., Nannipieri, P., Oades, J.M., 1996. Soil structure and biological activity, in: *Soil Biochemistry*, In: Stotzky, G., Bollag, J.M. (Eds.). Marcel Dekker, New-York, 23–28.

Lal, R., 2004. Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma* 123, 1–22.

Lal, R., 2008. Sequestration of atmospheric CO₂ in global carbon pools. *Energy and Environmental Science* 1, 86–100.

Lamparter, A., Bachmann, J., Goebel, M.O., Woche, S.K., 2009. Carbon mineralization in soil: Impact of wetting-drying, aggregation and water repellency. *Geoderma* 150, 324–333.

Lauber, C.L., Strickland, M.S., Bradford, M.A., Fierer, N., 2008. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 2407–2415.

Leguëdois, S., Bissonnais, Y.L., 2004. Size fractions resulting from an aggregate stability test, interrill detachment and transport. *Earth Surface Processes and Landforms* 29, 1117–1129.

Lehmann, J., Solomon, D., Kinyangi, J., Dathe, L., Wirick, S., Jacobsen, C., 2008. Spatial complexity of soil organic matter forms at nanometre scales. *Nature Geoscience* 1, 238–242.

Leifeld, J., Fuhrer, J., 2010. Organic Farming and Soil Carbon Sequestration: What Do We Really Know About the Benefits? *Ambio* 39, 585–599.

Lejon, D., Sebastia, J., Lamy, I., Chaussod, R., Ranjard, L., 2007. Relationships between Soil Organic Status and Microbial Community Density and Genetic Structure in Two Agricultural Soils Submitted to Various Types of Organic Management. *Microbial Ecology* 53, 650–663.

Linquist, B., Singleton, P., Yost, R., Cassman, K., 1997. Aggregate size effects on the sorption and release of phosphorus in an ultisol. *Soil Science Society of America Journal* 61, 160–166.

Loreau, M., Mouquet, N., Gonzalez, A., 2003. Biodiversity as spatial insurance in heterogeneous landscapes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100, 12765–12770.

Loreau, M., Naeem, S., Inchausti, P., Bengtsson, J., Grime, J.P., Hector, A., Hooper, D.U., Huston, M.A., Raffaelli, D., Schmid, B., Tilman, D., Wardle, D.A., 2001. Biodiversity and Ecosystem Functioning: Current Knowledge and Future Challenges. *Science* 294, 804–808.

Lubbers, I.M., Brussaard, L., Otten, W., Van Groenigen, J.W., 2011. Earthworm-induced N mineralization in fertilized grassland increases both N₂O emission and crop N uptake. *European Journal of Soil Science* 62, 152–161.

Luo, L., Lin, H., Schmidt, J., 2010. Quantitative Relationships between Soil Macropore Characteristics and Preferential Flow and Transport. *Soil Science Society of America Journal* 74, 1929.

Lupwayi, N.Z., Arshad, M.A., Rice, W.A., Clayton, G.W., 2001. Bacterial diversity in water-stable aggregates of soils under conventional and zero tillage management. *Applied Soil Ecology* 16, 251–261.

Lupwayi, N.Z., Rice, W.A., Clayton, G.W., 1998. Soil microbial diversity and community structure under wheat as influenced by tillage and crop rotation. *Soil Biology and Biochemistry* 30, 1733–1741.

Lützow, M.V., Kögel-Knabner, I., Ekschmitt, K., Matzner, E., Guggenberger, G., Marschner, B., Flessa, H., 2006. Stabilization of organic matter in temperate soils: mechanisms and their relevance under different soil condition - a review. *European Journal of Soil Science* 57, 426–445.

M

Mäder, P., Fliessbach, A., Dubois, D., Gunst, L., Fried, P., Niggli, U., 2002. Soil Fertility and Biodiversity in Organic Farming. *Science* 296, 1694–1697.

Malamoud, K., McBratney, A.B., Minasny, B., Field, D.J., 2009. Modelling how carbon affects soil structure. *Geoderma* 149, 19–26.

Marinari, S., Mancinelli, R., Campiglia, E., Grego, S., 2006. Chemical and biological indicators of soil quality in organic and conventional farming systems in Central Italy. *Ecological Indicators* 6, 701–711.

Marschner, P., Kandeler, E., Marschner, B., 2003. Structure and function of the soil microbial community in a long-term fertilizer experiment. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 453–461.

Martin, S.L., Mooney, S.J., Dickinson, M.J., West, H.M., 2012. Soil structural responses to alterations in soil microbiota induced by the dilution method and mycorrhizal fungal inoculation. *Pedobiologia* 55, 271–281.

McGuire, A.D., Sitch, S., Clein, J.S., Dargaville, R., Esser, G., Foley, J., Heimann, M., Joos, F., Kaplan, J., Kicklighter, D.W., Meier, R.A., Melillo, J.M., Moore, B., Prentice, I.C., Ramankutty, N., Reichenau, T., Schloss, A., Tian, H., Williams, L.J., Wittenberg, U., 2001. Carbon balance of the terrestrial biosphere in the twentieth century: Analyses of CO₂, climate

and land use effects with four process-based ecosystem models. *Global Biogeochemical Cycles* 15, 183–206.

McNamara, N.P., Black, H.I.J., Beresford, N.A., Parekh, N.R., 2003. Effects of acute gamma irradiation on chemical, physical and biological properties of soils. *Applied Soil Ecology* 24, 117–132.

Monga, O., Bousso, M., Garnier, P., Pot, V., 2009. Using pore space 3D geometrical modelling to simulate biological activity: Impact of soil structure. *Computers and Geosciences* 35, 1789–1801.

Moyano, F.E., Manzoni, S., Chenu, C., 2013. Responses of soil heterotrophic respiration to moisture availability: An exploration of processes and models. *Soil Biology and Biochemistry* 59, 72–85.

Musy, A., Soutter, M., 1991. *Physique du sol*. PPUR presses polytechniques.

N

Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M.T., Landi, L., Pietramellara, G., Renella, G., 2003. Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science* 54, 655–670.

Ngom, N.F., Garnier, P., Monga, O., Peth, S., 2011. Extraction of three-dimensional soil pore space from microtomography images using a geometrical approach. *Geoderma* 163, 127–134.

Nicolardot, B., Bouziri, L., Bastian, F., Ranjard, L., 2007. A microcosm experiment to evaluate the influence of location and quality of plant residues on residue decomposition and genetic structure of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 1631–1644.

Nielsen, U.N., Ayres, E., Wall, D.H., Bardgett, R.D., 2011. Soil biodiversity and carbon cycling: a review and synthesis of studies examining diversity–function relationships. *European Journal of Soil Science* 62, 105–116.

Nunan, N., Ritz, K., Rivers, M., Feeney, D.S., Young, I.M., 2006. Investigating microbial micro-habitat structure using X-ray computed tomography. *Geoderma* 133, 398–407.

Nunan, N., Wu, K., Young, I.M., Crawford, J.W., Ritz, K., 2002. In Situ Spatial Patterns of Soil Bacterial Populations, Mapped at Multiple Scales, in an Arable Soil. *Microbial Ecology* 44, 296–305.

Nunan, N., Wu, K., Young, I.M., Crawford, J.W., Ritz, K., 2003. Spatial distribution of bacterial communities and their relationships with the micro-architecture of soil. *FEMS Microbiology Ecology* 44, 203–215.

O

Or, D., Smets, B.F., Wraith, J.M., Dechesne, A., Friedman, S.P., 2007. Physical constraints affecting bacterial habitats and activity in unsaturated porous media - a review. *Advances in Water Resources* 30, 1505–1527.

Otsu, N., 1979. Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms. *IEEE Transactions on Systems Man and Cybernetics* 9, 62–66.

Otten, W., Gilligan, C.A., Watts, C.W., Dexter, A.R., Hall, D., 1999. Continuity of air-filled pores and invasion thresholds for a soil-borne fungal plant pathogen, *Rhizoctonia solani*. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 1803–1810.

Ovreas, L., Torsvik, V., 1998. Microbial diversity and community structure in two different agricultural soil communities. *Microbial Ecology* 36, 303–315.

P

Pagliai, M., Marsili, A., Servadio, P., Vignozzi, N., Pellegrini, S., 2003. Changes in some physical properties of a clay soil in Central Italy following the passage of rubber tracked and wheeled tractors of medium power. *Soil and Tillage Research* 73, 119–129.

Pagliai, M., Vignozzi, N., Pellegrini, S., 2004. Soil structure and the effect of management practices. *Soil and Tillage Research* 79, 131–143.

Pajor, R., Falconer, R., Hapca, S., Otten, W., 2010. Modelling and quantifying the effect of heterogeneity in soil physical conditions on fungal growth. *Biogeosciences* 7, 3731–3740.

Paterson, E., 2009. Comments on the regulatory gate hypothesis and implications for C-cycling in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 1352–1354.

Paustian, K., Parton, W., Persson, J., 1992. Modeling Soil Organic Matter in Organic Amended and Nitrogen Fertilized Long-Term Plots. *Soil Science Society of America Journal* 56, 476–488.

Pelosi, C., Bertrand, M., Roger-Estrade, J., 2009. Earthworm community in conventional, organic and direct seeding with living mulch cropping systems. *Agronomy for Sustainable Development* 29, 287–295.

Pereira, J.O., Défossez, P., Richard, G., 2007. Soil susceptibility to compaction by wheeling as a function of some properties of a silty soil as affected by the tillage system. *European Journal of Soil Science* 58, 34–44.

Perez-Reche, F.J., Taraskin, S.N., Otten, W., Viana, M.P., Costa, L. da F., Gilligan, C.A., 2012. Prominent effect of soil network heterogeneity on microbial invasion. *Physical review letters* 109.

Peth, S., Horn, R., Beckmann, F., Donath, T., Fischer, J., Smucker, A.J.M., 2008. Three-Dimensional Quantification of Intra-Aggregate Pore-Space Features using Synchrotron-Radiation-Based Microtomography. *Soil Science Society of America Journal* 72, 897.

Postma, J., Veen, J.V., Walter, S., 1989. Influence of different initial soil moisture contents on the distribution and population dynamics of introduced *Rhizobium leguminosarum biovar trifolii*. *Soil Biology and Biochemistry* 21, 437–442.

Prove, B.G., Loch, R.J., Foley, J.L., Anderson, V.J., Younger, D.R., 1990. Improvements in aggregation and infiltration characteristics of a krasnozem under maize with direct drill and stubble retention. *Australian Journal of Soil Research* 28, 577–590.

Puget, P., Chenu, C., Balesdent, J., 1995. Total and young organic-matter distributions in aggregates of silty cultivated soils. *European Journal of Soil Science* 46, 449–459.

Puget, P., Lal, R., 2005. Soil organic carbon and nitrogen in a Mollisol in central Ohio as affected by tillage and land use. *Soil and Tillage Research* 80, 201–213.

R

Rahman, M.H., Okubo, A., Sugiyama, S., Mayland, H.F., 2008. Physical, chemical and microbiological properties of an Andisol as related to land use and tillage practice. *Soil and Tillage Research* 101, 10–19.

Ranjard, L., Richaume, A., 2001. Quantitative and qualitative microscale distribution of bacteria in soil. *Research in Microbiology* 152, 707–716.

Richard, G., Cousin, I., Sillon, J.F., Bruand, A., Guérif, J., 2001. Effet du compactage sur la porosité d'un sol limoneux: conséquences sur les propriétés hydrauliques en non saturé. *European Journal of Soil Science* 52, 49–58.

Rimmer, D.L., 2006. Free radicals, antioxidants, and soil organic matter recalcitrance. *European Journal of Soil Science* 57, 91–94.

Ritz, K., McNicol, J.W., Nunan, N., Grayston, S., Millard, P., Atkinson, D., Gollotte, A., Habeshaw, D., Boag, B., Clegg, C.D., Griffiths, B.S., Wheatley, R.E., Glover, L.A., McCaig, A.E., Prosser, J.I., 2004. Spatial structure in soil chemical and microbiological properties in an upland grassland. *FEMS Microbiology Ecology* 49, 191–205.

Robertson, E., Campbell, D., 1997. Simple, low-cost image analysis of soil pore structure. *Journal of Agricultural Engineering Research* 68, 291–296.

Robertson, G., Klingensmith, K., Klug, M., Paul, E., Crum, J., Ellis, B., 1997. Soil resources, microbial activity, and primary production across an agricultural ecosystem. *Ecological Applications* 7, 158–170.

Robertson, G.P., Paul, E.A., Harwood, R.R., 2000. Greenhouse Gases in Intensive Agriculture: Contributions of Individual Gases to the Radiative Forcing of the Atmosphere. *Science* 289, 1922–1925.

Roesch, L.F., Fulthorpe, R.R., Riva, A., Casella, G., Hadwin, A.K.M., Kent, A.D., Daroub, S.H., Camargo, F.A.O., Farmerie, W.G., Triplett, E.W., 2007. Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. *Isme Journal* 1, 283–290.

Rothschild, L.J., Mancinelli, R.L., 2001. Life in extreme environments. *Nature* 409, 1092–1101.

Ruamps, L.S., Nunan, N., Chenu, C., 2010. Microbial biogeography at the soil pore scale. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 280–286.

S

Salomé, C., Nunan, N., Pouteau, V., Lerch, T., Chenu, C., 2010. Carbon dynamics in topsoil and in subsoil may be controlled by different regulatory mechanisms. *Global Change Biology* 16, 416–426.

Schäffer, B., Mueller, T.L., Stauber, M., Müller, R., Keller, M., Schulin, R., 2008b. Soil and macro-pores under uniaxial compression. II. Morphometric analysis of macro-pore stability in undisturbed and repacked soil. *Geoderma* 146, 175–182.

Schäffer, B., Stauber, M., Mueller, T.L., Müller, R., Schulin, R., 2008a. Soil and macro-pores under uniaxial compression. I. Mechanical stability of repacked soil and deformation of different types of macro-pores. *Geoderma* 146, 183–191.

Schimel, J., Balser, T.C., Wallenstein, M., 2007. Microbial stress-response physiology and its implications for ecosystem function. *Ecology* 88, 1386–1394.

Schimel, J.P., Gullledge, J., 1998. Microbial community structure and global trace gases. *Global Change Biology* 4, 745–758.

Schimel, J.P., Schaeffer, S.M., 2012. Microbial control over carbon cycling in soil. *Frontiers in microbiology* 3, 348.

Schjonning, P., 1989. Long-Term Reduced Cultivation .2. Soil Pore Characteristics as Shown by Gas Diffusivities and Permeabilities and Air-Filled Porosities. *Soil and Tillage Research* 15, 91–103.

Schjonning, P., Thomsen, I.K., Moldrup, P., Christensen, B.T., 2003. Linking Soil Microbial Activity to Water- and Air-Phase Contents and Diffusivities. *Soil Science Society of America Journal* 67, 156–165.

Schmidt, S.K., Costello, E.K., Nemergut, D.R., Cleveland, C.C., Reed, S.C., Weintraub, M.N., Meyer, A.F., Martin, A.M., 2007. Biogeochemical consequences of rapid microbial turnover and seasonal succession in soil. *Ecology* 88, 1379–1385.

Sessitsch, A., Weilharter, A., Gerzabek, M.H., Kirchmann, H., Kandeler, E., 2001. Microbial Population Structures in Soil Particle Size Fractions of a Long-Term Fertilizer Field Experiment. *Applied and Environmental Microbiology* 67, 4215–4224.

Sexstone, A.J., Revsbech, N.P., Parkin, T.B., Tiedje, J.M., 1985. Direct measurement of oxygen profiles and denitrification rates in soil aggregates. *Soil Science Society of America Journal* 49, 645–651.

Six, J., Bossuyt, H., De Gryze, S., Denef, K., 2004. A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil and Tillage Research* 79, 7–31.

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, 155–176.

Six, J., Elliott, E.T., Paustian, K., 2000. Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: a mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture. *Soil Biology and Biochemistry* 32, 2099–2103.

Six, J., Paustian, K., Elliott, E.T., Combrink, C., 2000. Soil Structure and Organic Matter. *Soil Science Society of America Journal* 64, 681.

Sleutel, S., Bouckaert, L., Buchan, D., Van Loo, D., Cornelis, W.M., Sanga, H.G., 2012. Manipulation of the soil pore and microbial community structure in soil mesocosm incubation studies. *Soil Biology and Biochemistry* 45, 40–48.

Sleutel, S., Cnudde, V., Masschaele, B., Vlassenbroek, J., Dierick, M., Van Hoorebeke, L., Jacobs, P., De Neve, S., 2008. Comparison of different nano- and micro-focus X-ray computed tomography set-ups for the visualization of the soil microstructure and soil organic matter. *Computers and Geosciences* 34, 931–938.

Sollins, P., Homann, P., Caldwell, B.A., 1996. Stabilization and destabilization of soil organic matter: mechanisms and controls. *Geoderma* 74, 65–105.

Standing, D., Killham, K., 2007. The soil environment, in: *Modern Soil Microbiology*. van Elsas, J.D., Jansson J.K., Trevors J.T., New York, CRC Press, pp. 1–22.

Stenger, R., Barkle, G., Burgess, C., 2002. Mineralisation of organic matter in intact versus sieved/refilled soil cores. *Australian Journal of Soil Research* 40, 149–160.

Stockmann, U., Adams, M.A., Crawford, J.W., Field, D.J., Henakaarchchi, N., Jenkins, M., Minasny, B., McBratney, A.B., Courcelles, V. de R. de, Singh, K., Wheeler, I., Abbott, L., Angers, D.A., Baldock, J., Bird, M., Brookes, P.C., Chenu, C., Jastrow, J.D., Lal, R., Lehmann, J., O'Donnell, A.G., Parton, W.J., Whitehead, D., Zimmermann, M., 2013. The knowns, known unknowns and unknowns of sequestration of soil organic carbon. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 164, 80–99.

Strong, D.T., Wever, H.D., Merckx, R., Recous, S., 2004. Spatial location of carbon decomposition in the soil pore system. *European Journal of Soil Science* 55, 739–750.

T

Tarnocai, C., Canadell, J.G., Schuur, E. a. G., Kuhry, P., Mazhitova, G., Zimov, S., 2009. Soil organic carbon pools in the northern circumpolar permafrost region. *Global Biogeochemical Cycles* 23.

Thomson, B.C., Ostle, N.J., McNamara, N.P., Whiteley, A.S., Griffiths, R.I., 2010. Effects of sieving, drying and rewetting upon soil bacterial community structure and respiration rates. *Journal of Microbiological Methods* 83, 69–73.

Tilman, D., Reich, P.B., Isbell, F., 2012. Biodiversity impacts ecosystem productivity as much as resources, disturbance, or herbivory. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109, 10394–10397.

Tisdall, J.M., Oades, J.M., 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *Journal of Soil Science* 33, 141–163.

Torsvik, V., Daae, F.L., Sandaa, R.-A., Øvreås, L., 1998. Novel techniques for analysing microbial diversity in natural and perturbed environments. *Journal of Biotechnology* 64, 53–62.

Torsvik, V., Øvreås, L., 2002. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Current Opinion in Microbiology* 5, 240–245.

Trinsoutrot, I., Recous, S., Bentz, B., Line`res, M., Che`neby, D., Nicolardot, B., 2000. Biochemical Quality of Crop Residues and Carbon and Nitrogen Mineralization Kinetics under Nonlimiting Nitrogen Conditions. *Soil Science Society of America Journal* 64, 918.

Tu, C., Louws, F.J., Creamer, N.G., Paul Mueller, J., Brownie, C., Fager, K., Bell, M., Hu, S., 2006. Responses of soil microbial biomass and N availability to transition strategies from conventional to organic farming systems. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 113, 206–215.

V

Vance, E.D., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry* 19, 703–707.

Vanveen, J., Kuikman, P., 1990. Soil Structural Aspects of Decomposition of Organic-Matter by Microorganisms. *Biogeochemistry* 11, 213–233.

Virto, I., Barré, P., Burlot, A., Chenu, C., 2012. Carbon input differences as the main factor explaining the variability in soil organic C storage in no-tilled compared to inversion tilled agrosystems. *Biogeochemistry* 108, 17–26.

Virto, I., Barré, P., Chenu, C., 2008. Microaggregation and organic matter storage at the silt-size scale. *Geoderma* 146, 326–335.

W

Wan, J., Tylliszczak, T., Tokunaga, T.K., 2007. Organic carbon distribution, speciation, and elemental correlations within soil microaggregates: Applications of STXM and NEXAFS spectroscopy. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 71, 5439–5449.

Wang, X., Yost, R.S., Linquist, B.A., 2001. Soil aggregate size affects phosphorus desorption from highly weathered soils and plant growth. *Soil Science Society of America Journal* 65, 139–146.

Wertz, S., Degrange, V., Prosser, J.I., Poly, F., Commeaux, C., Freitag, T., Guillaumaud, N., Roux, X.L., 2006. Maintenance of soil functioning following erosion of microbial diversity. *Environmental Microbiology* 8, 2162–2169.

Wertz, S., Degrange, V., Prosser, J.I., Poly, F., Commeaux, C., Guillaumaud, N., Roux, X.L., 2007. Decline of soil microbial diversity does not influence the resistance and resilience of key soil microbial functional groups following a model disturbance. *Environmental Microbiology* 9, 2211–2219.

West, T.O., Post, W.M., 2002. Soil Organic Carbon Sequestration Rates by Tillage and Crop Rotation. *Soil Science Society of America Journal* 66, 1930.

Y

Yoo, G., Spomer, L.A., Wander, M.M., 2006. Regulation of carbon mineralization rates by soil structure and water in an agricultural field and a prairie-like soil. *Geoderma* 135, 16–25.

Young, I.M., Crawford, J.W., 2004. Interactions and Self-Organization in the Soil-Microbe Complex. *Science* 304, 1634–1637.

Young, I.M., Crawford, J.W., Nunan, N., Otten, W., Spiers, A., 2008. Chapter 4 Microbial Distribution in Soils: Physics and Scaling. *Academic Press*, 81–121.

Young, I.M., Ritz, K., 2000. Tillage, habitat space and function of soil microbes. *Soil and Tillage Research* 53, 201–213.

Young, I.M., Ritz, K., 2005. The habitat of soil microbes. *Cambridge University Press, Cambridge, UK*.

Z

Zelles, L., 1997. Phospholipid fatty acid profiles in selected members of soil microbial communities. *Chemosphere* 35, 275–294.

Zelles, L., 1999. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. *Biology and Fertility of Soils* 29, 111–129.

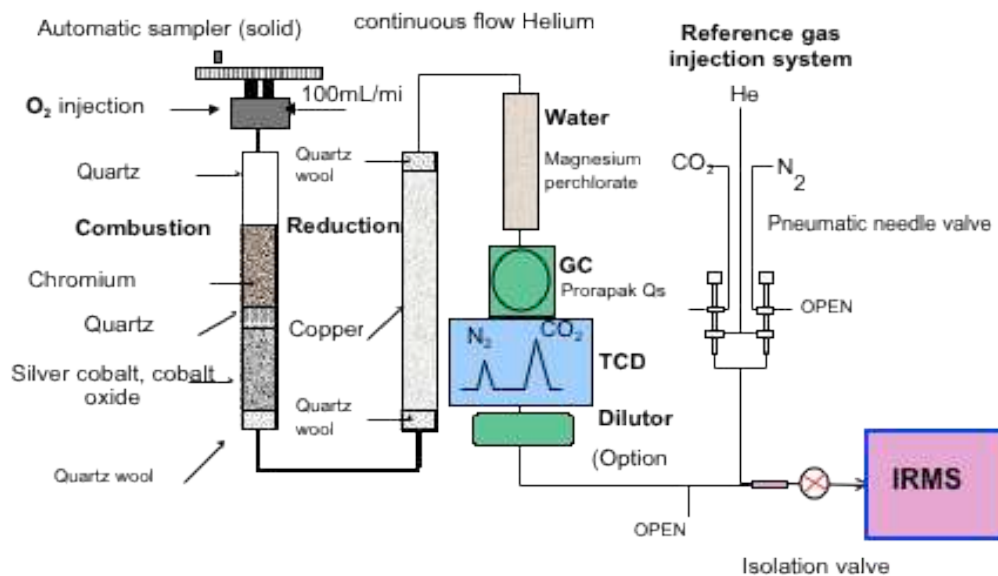
Zhang, Q.-F., Jiang, Z.-T., Gao, H.-J., Li, R., 2007. Recovery of vanillin from aqueous solutions using macroporous adsorption resins. *European Food Research and Technology* 226, 377–383.

Zhou, J., Xia, B., Treves, D.S., Wu, L.-Y., Marsh, T.L., O'Neill, R.V., Palumbo, A.V., Tiedje, J.M., 2002. Spatial and Resource Factors Influencing High Microbial Diversity in Soil. *Applied Environmental Microbiology*. 68, 326–334.

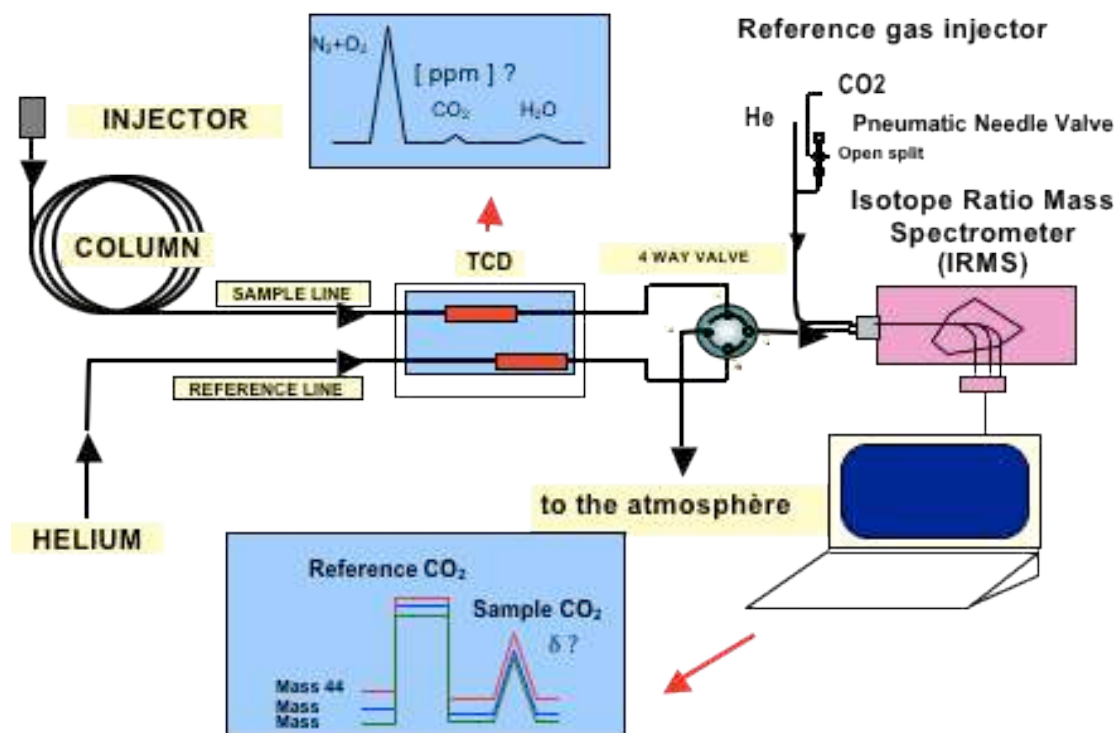
Zogg, G.P., 1997. Compositional and functional shifts in microbial communities due to soil warming. *Soil Science Society of America Journal*. 475–481.

ANNEXES

ANNEXE A: SCHEMA DU FONCTIONNEMENT D'UN ANALYSEUR ELEMENTAIRE COUPLE A UN SPECTROMETRE DE MASSE A RATIO ISOTOPIQUE (BARDOUX, COMMUNICATION PERSONNELLE).	205
ANNEXE B: SCHEMA DU FONCTIONNEMENT D'UN CHROMATOGRAPHE EN PHASE GAZEUSE COUPLE A UN SPECTROMETRE DE MASSE A RATIO ISOTOPIQUE (BARDOUX, COMMUNICATION PERSONNELLE).....	206
ANNEXE C: LES DIFFERENTES SOURCES DE CARBONE D'UNE PLAQUE BIOLOG ECOPLATE™ (WWW.BIOLOG.COM).....	207



Annexe A: Schéma du fonctionnement d'un analyseur élémentaire couplé à un spectromètre de masse à ratio isotopique (Bardoux, Communication personnelle).



Annexe B: Schéma du fonctionnement d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse à ratio isotopique (Bardoux, Communication personnelle).

BIOLOG
EcoPlate™

Microbial Community Analysis

A1 Water	A2 β-Methyl-D- Glucoside	A3 D-Galactonic Acid γ-Lactone	A4 L-Arginine	A1 Water	A2 β-Methyl-D- Glucoside	A3 D-Galactonic Acid γ-Lactone	A4 L-Arginine	A1 Water	A2 β-Methyl-D- Glucoside	A3 D-Galactonic Acid γ-Lactone	A4 L-Arginine
B1 Pyruvic Acid Methyl Ester	B2 D-Xylose	B3 D- Galacturonic Acid	B4 L-Asparagine	B1 Pyruvic Acid Methyl Ester	B2 D-Xylose	B3 D- Galacturonic Acid	B4 L-Asparagine	B1 Pyruvic Acid Methyl Ester	B2 D-Xylose	B3 D- Galacturonic Acid	B4 L-Asparagine
C1 Tween 40	C2 l-Erythritol	C3 2-Hydroxy Benzoic Acid	C4 L- Phenylalanine	C1 Tween 40	C2 l-Erythritol	C3 2-Hydroxy Benzoic Acid	C4 L- Phenylalanine	C1 Tween 40	C2 l-Erythritol	C3 2-Hydroxy Benzoic Acid	C4 L- Phenylalanine
D1 Tween 80	D2 D-Mannitol	D3 4-Hydroxy Benzoic Acid	D4 L-Serine	D1 Tween 80	D2 D-Mannitol	D3 4-Hydroxy Benzoic Acid	D4 L-Serine	D1 Tween 80	D2 D-Mannitol	D3 4-Hydroxy Benzoic Acid	D4 L-Serine
E1 α- Cyclodextrin	E2 N-Acetyl-D- Glucosamine	E3 γ- Hydroxybutyric Acid	E4 L-Threonine	E1 α- Cyclodextrin	E2 N-Acetyl-D- Glucosamine	E3 γ- Hydroxybutyric Acid	E4 L-Threonine	E1 α- Cyclodextrin	E2 N-Acetyl-D- Glucosamine	E3 γ- Hydroxybutyric Acid	E4 L-Threonine
F1 Glycogen	F2 D- Glucosaminic Acid	F3 Itaconic Acid	F4 Glycyl-L- Glutamic Acid	F1 Glycogen	F2 D- Glucosaminic Acid	F3 Itaconic Acid	F4 Glycyl-L- Glutamic Acid	F1 Glycogen	F2 D- Glucosaminic Acid	F3 Itaconic Acid	F4 Glycyl-L- Glutamic Acid
G1 D-Cellobiose	G2 Glucose-1- Phosphate	G3 α-Ketobutyric Acid	G4 Phenylethyl- amine	G1 D-Cellobiose	G2 Glucose-1- Phosphate	G3 α-Ketobutyric Acid	G4 Phenylethyl- amine	G1 D-Cellobiose	G2 Glucose-1- Phosphate	G3 α-Ketobutyric Acid	G4 Phenylethyl- amine
H1 α-D-Lactose	H2 D,L-α-Glycerol Phosphate	H3 D-Malic Acid	H4 Putrescine	H1 α-D-Lactose	H2 D,L-α-Glycerol Phosphate	H3 D-Malic Acid	H4 Putrescine	H1 α-D-Lactose	H2 D,L-α-Glycerol Phosphate	H3 D-Malic Acid	H4 Putrescine

Annexe C: Les différentes sources de carbone d'une plaque BIOLOG EcoPlate™ (www.biolog.com).

VALORISATION DE CE TRAVAIL DE THÈSE

- **Conférences internationales (posters)**

Juarez, S., Nunan, N., Pouteau, V., Duday, A.C., Schmidt, S., Hapca, S., Falconer, R., Otten, W. & Chenu, C., 2012. Soil structure effect on the biodegradation of native and added organic matter. Eurosoil, Bari, Juillet 2012.

Juarez, S., Nunan, N., Pouteau, V. & Chenu, C., 2012. Microbial habitat conditions or microbial communities as drivers of soil organic matter decomposition? Eurosoil, Bari, Juillet 2012.

Juarez, S., Burykin, T., Chenu, C., Crawford, J. & Nunan, N., 2012. Organic matter distribution in soil aggregates from different cropping systems: An approach combining experimental and modelling tools. Eurosoil, Bari, Juillet 2012.

Juarez, S., Nunan, N., Otten, W. & Chenu, C., 2011. Soil structure effect on the biodegradation of native and added organic matter. ISMOM, Montpellier, Juin 2011.

Juarez, S., Nunan, N. & Chenu, C., 2010. Hierarchy of biotic and abiotic controls on the degradation in soil of native and added organic matter. SOM2010, Presqu'île de Giens, Septembre 2010.

- **Conférences nationales (présentations orales)**

Juarez, S., Pouteau, V., Nunan, N., Bardoux, G., Otten, W. & Chenu, C., 2012. Effet de la structure du sol sur la biodégradation de la matière organique native du sol et sur la matière organique apportée. Journées Nationales d'Etude des Sols, Versailles, Mars 2012.

Juarez, S., Akroume, E., Nunan, N., Otten, W. & Chenu, C., 2011. Régulations biologiques et abiotiques de la décomposition des matières organiques dans des sols sous systèmes de culture contrastés. Journées des doctorants du DIM Astréa, Paris, Mars 2011.