

# 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 CO<sub>2</sub> 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 leurs 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.

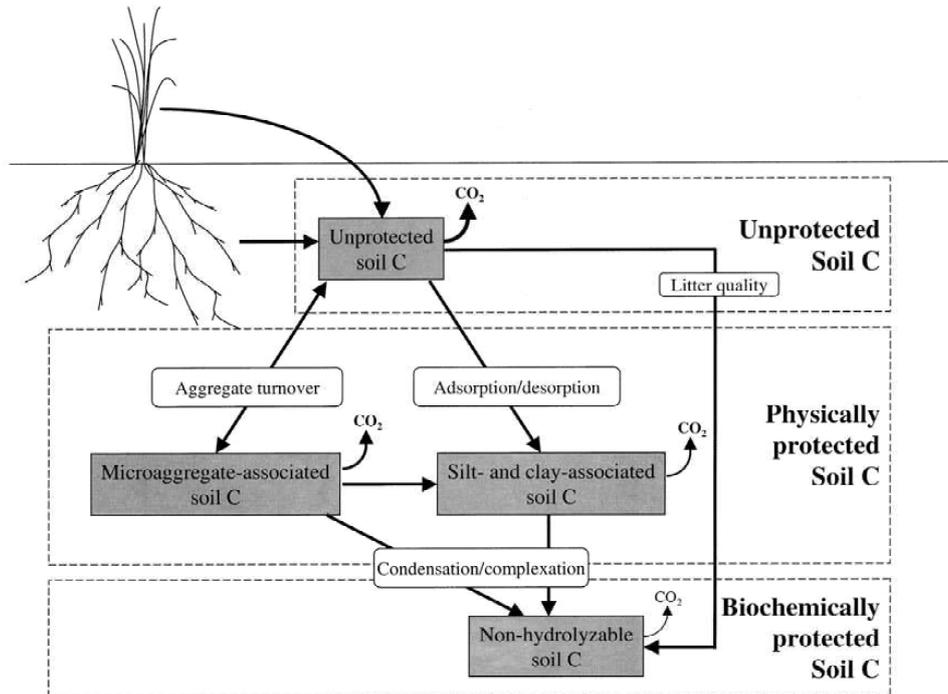


Figure I.1: Les mécanismes de protection du carbone du sol (Six et al., 2002).

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 (Diaz-Zorita et al., 2002).**

Processes <sup>a</sup>		
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

<sup>a</sup> 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) .

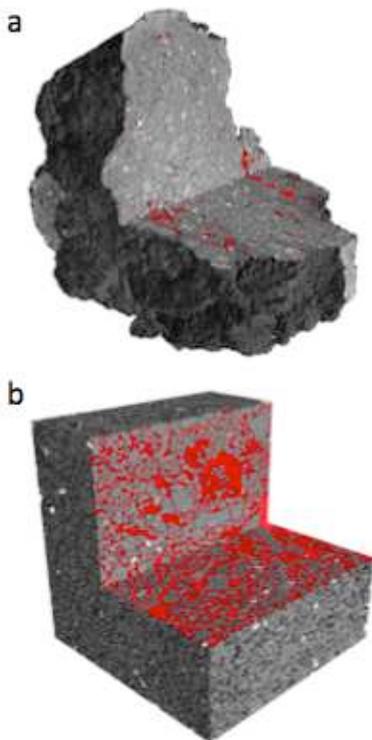


Figure I.2: Images de la structure d'un agrégat de sol obtenues par analyse en micro-tomographie à rayons X, à une résolution de 5  $\mu\text{m}$  (a) et de 2  $\mu\text{m}$  (b). Le réseau poral est représenté en rouge.

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  $\mu\text{m}$ ).

## 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 ( $\text{OsO}_4$ ) 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 aérobiose ou anaérobiose, 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 CO<sub>2</sub> (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 Gullledge, 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  $\text{CHCl}_3$  (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.

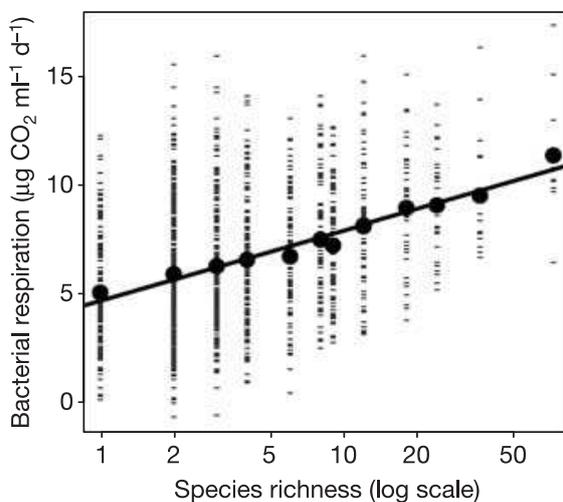


Figure I.3: Lien entre la diversité bactérienne et la fonction de respiration (Bell et al., 2005).

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  $\text{CHCl}_3$ , 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).

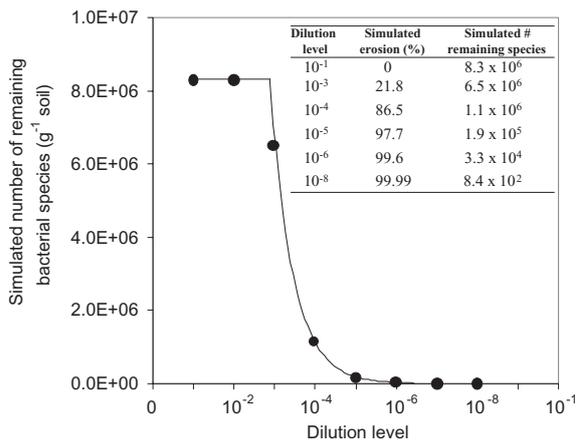


Figure I.4: Effet des dilutions sur la diversité bactérienne (Wertz et al., 2006).

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  $\mu\text{m}$  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).

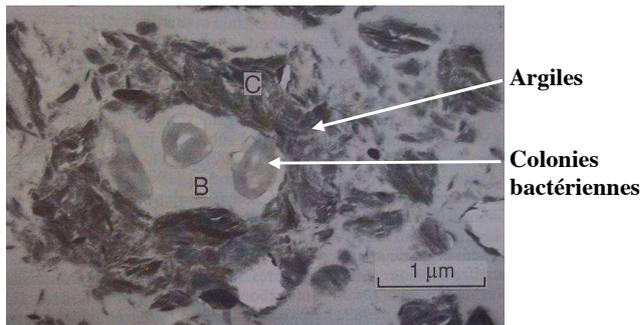


Figure I.5: Colonies bactériennes dans une structure argileuse observées en microscopie électronique à transmission (Ladd et al., 1993).

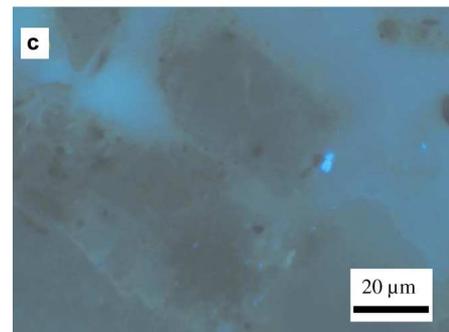
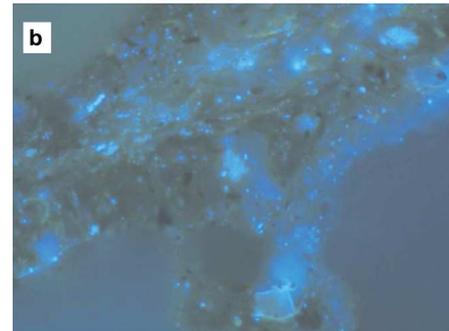
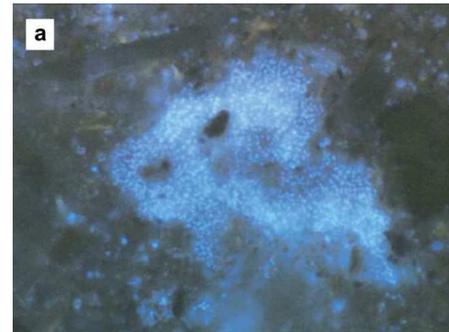


Figure I.6: Colonies bactériennes au sein du réseau poral d'un sol de surface amendé avec du glucose (A), et après consommation du glucose (B) et au sein d'un sol de profondeur (C) (Nunan et al., 2003). Les colonies sont colorées en bleu.

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  $\mu\text{m}$  (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 culturales 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.

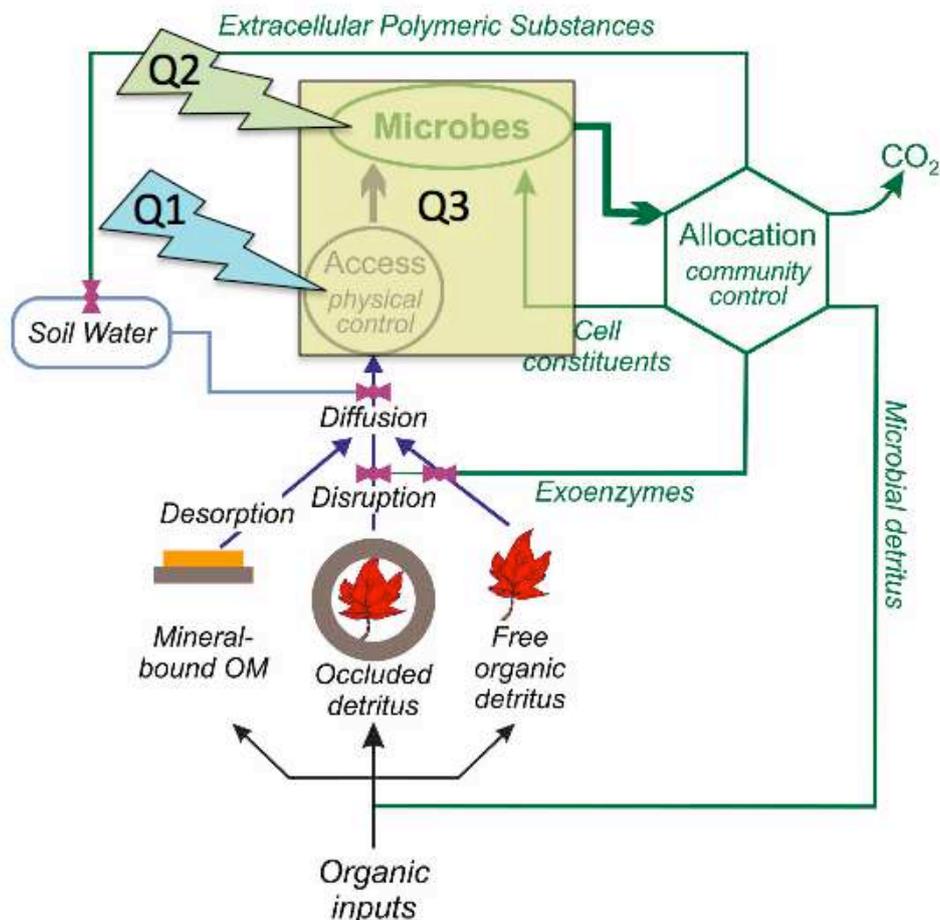


Figure I.7: Les régulations de la décomposition des matières organiques des sols (d'après Schimel and Schaeffer, 2012).