# **THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE MONTPELLIER SUPAGRO**

# En Écologie Fonctionnelle et Sciences Agronomiques

École doctorale GAIA – Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre, Eau Portée par l'Université de Montpellier

Unité de recherche Eco&Sols et Laboratoire des Radio-Isotopes

# **PRIMING EFFECT : UN OUTIL de gestion de la fertilité** des sols cultivés à Madagascar

# Présentée par Kanto RAZANAMALALA Le 15 décembre 2017

## Sous la direction de Eric BLANCHART et Tantely RAZAFIMBELO

# Devant le jury composé de

Safya MENASSERIE, Maître de conférences (HDR) AgroCampus Ouest, Rennes	Rapporteur
Heriniaina RAMANANKIERANA, Directeur de Recherche Associé (HDR), Centre National de	Rapporteur
Recherche en Environnement, Antananarivo	
Sébastien FONTAINE, Chargé de recherche, INRA Clermont-Ferrand.	Examinateur
Jean Chrysostome RANDRIAMBOAVONJY, Professeur de l'Université d'Antananarivo (HDR).	Examinateur
Eric BLANCHART DR1 (HDR) IRD UMR Eco&sols, Montpellier	Directeur de thèse
Tantely RAZAFIMBELO, Professeur de l'Université d'Antananarivo (HDR), Laboratoire des radio-	Directeur de thèse
isotopes, Madagascar	
Lilia RABEHARISOA, Professeur de l'Université d'Antananarivo (HDR), Laboratoire des radio-	Invitée (Rapporteur
isotopes, Madagascar	interne à l'ED A2E,
	Madagascar)
Laetitia RERNARD, CR1 IRD, LIMR Eco&sols, Montpellier	Invitée (Encadrante)

Laetitia BERNARD, CR1 IRD, UMR Eco&sols, Montpellier

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER





## Remerciements

Je tiens à faire part ici de ma sincère gratitude aux nombreuses personnes et institutions qui ont contribué à la réalisation de cette thèse.

Je tiens à adresser mes sincères remerciements à Dr. Eric Blanchart, directeur de thèse, et Pr. Tantely Razafimbelo, co-directeur de thèse. Un grand merci pour toute l'aide apportée, les conseils avisés et l'accompagnement scientifique comme administratif.

Je tiens à exprimer ma sincère et profonde gratitude à Dr. Laetitia Bernard, encadrante de thèse et mentor, sans qui ce travail n'aurait pu aboutir. Merci infiniment pour l'encadrement, les conseils, la confiance, la patience, le soutien et la bienveillance prodigués tout au long de ces années de doctorat.

Je tiens à remercier les membres du jury d'avoir accepté d'examiner ce travail de thèse. Merci à Mme Safya Menasserie, M. Heriniaina Ramanankierana, M. Sébastien Fontaine, M. Jean-Chrysostome Randriamboavonjy et Mme Lilia Rabeharisoa d'accorder votre temps et vos expertises. Je remercie également les membres de mon comité de pilotage de thèse. Merci à M. Marc Bouvy, M. Harilala Andriamaniraka et M. Pierre-Alain Maron, pour leurs aides, leurs soutiens et leurs conseils durant ces années de thèse.

J'adresse ma sincère reconnaissance à toutes les équipes et collègues qui m'ont accueilli à bras ouverts durant ce travail de thèse. Merci aux chercheurs, aux personnels administratif et technique du Laboratoire des Radio-Isotopes de m'avoir intégré dans leur équipe et apporté leurs compétences et recommandations. Merci à Marie-Paule Razafimanantsoa et à l'équipe technique, de m'avoir formée, aidée et conseillée sur la paillasse. Merci également aux chercheurs et au personnel de l'UMR Eco&Sols de m'avoir chaleureusement reçu. Merci à Anne-Laure Pablo et Damien Dezette d'avoir accepté de m'accueillir et me former dans l'atelier Biologie moléculaire. Merci à Agnès Robin pour ses conseils quant à l'interprétation des analyses moléculaires des communautés fongiques du sol. Merci à Jean Trap pour ses conseils en analyses statistiques. Merci à l'équipe de l'UMR Agroécologie et de la plateforme Genosol de m'avoir accueilli dans leurs locaux. Merci à Pierre-Alain Maron, Lionel Ranjard, Nicolas Chemidlin, Sebastien Terrat, Samuel Dequiedt, Virginie Nowak, Mélanie Lelièvre et Julie Tripied pour leur aide, leurs conseils et pour l'encadrement de ma formation au sein de

leur équipe. Enfin merci à Jean-Michel Leong de la plateforme interinstitutionnelle du Fofifa d'avoir accepté de m'accueillir pour me permettre de réaliser mes extractions d'ADN des sols.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Modeste Rakotodraanana, Fidy Raharison, aux ingénieurs agronomes et techniciens de l'ONG AgriSud et à l'équipe du projet CAMMiSolE pour leur aide lors de la préparation et la réalisation des travaux de terrain.

Je tiens également à remercier l'équipe de choc des doctorants du LRI sans qui ces années n'auraient pas eu la même saveur. Un grand merci pour la bonne humeur, l'aide apportée à la paillasse, sur le terrain et au bureau, pour les échanges et les débats et pour le soutien dans les moments de doutes. Merci à Onjaherilanto Razanakoto d'avoir renforcé mon malgache. Je tiens également à remercier Patricia Ranoarisoa d'avoir été mon éternelle complice de laboratoire.

Un grand merci à Andréa Fanomezana Rota, stagiaire de master impliquée, pour son aide dans mes travaux et son intérêt pour mon sujet de thèse.

Mes sincères remerciements s'adressent également aux institutions qui ont contribué financièrement à la réalisation de cette thèse : la Fondation pour la Recherche sur la Biodiversité (projet FRB-AAP-SCEN-2013 II-CAMMiSolE), la Fondation Agropolis pour l'attribution d'une bourse à la mobilité de 5 mois (projet CARIM ID 1202-030), l'IFS (International Foundation for Science) pour l'attribution d'une subvention de recherche (IFS GRANT C5876) et le Ministère français des Affaires Etrangères pour l'attribution d'une bourse à la mobilité de 3 mois (MAE-Bourse BGF).

Un grand merci à ma famille pour son soutien, sa prévenance et son amour sans limites malgré les impacts du stress sur mon caractère. Je tiens notamment à remercier mon père, Rivomandroso Rakotodrazokiny, qui m'a accueilli les bras ouverts, m'a écouté râler et qui a tenté de m'enseigner le relativisme malagasy. Un grand merci à Christian Raveloson pour son indéfectible présence quand j'avais besoin d'aide et pour son éternel flegme qui a été très rassurant. Merci aux cousins qui ont su agrémenter ces années de dur labeur de moments d'amusement. Mes pensées vont également à feu mon grand-père, Milson Rakotomalala, qui n'a jamais douté de ma capacité à atteindre les objectifs que je m'impose.

Merci à tous les amis, qu'ils soient en France, à Madagascar ou ailleurs, pour leur soutien, leurs conseils et leur réconfort, pour leur compréhension face à mes absences répétées et pour leurs efforts afin consolider ma confiance en moi. Merci à Tsiresy Pierre Bernard pour ses précieux conseils en statistiques. Merci à Raphael Civade et Christophe Lecarpentier pour le partage de leurs expériences d'anciens doctorants.

Merci à Madeleine qui m'a permis de vivre ma fin de thèse sans avoir à me préoccuper de la cuisine et de l'entretien de l'appartement.

Enfin, je tiens à dédier cette thèse à ma môman, Nivo Razanamalala, qui m'a soutenue dans mon choix de faire une grande partie de ma thèse à Madagascar malgré ses inquiétudes. Ceci est l'humble témoignage de ma reconnaissance pour le soutien indéfectible et les sacrifices faits depuis tant d'années afin que je puisse commencer sereinement ma carrière.

## Résumé

Le priming effect (PE) est la sur-minéralisation de la matière organique du sol (MOS) après un apport de matière organique fraiche. Ce phénomène serait généré par deux mécanismes distincts, la décomposition stœchiométrique et le « nutrient mining », ayant leur propre dynamique, leurs propres acteurs, leurs propres déterminants et leur propre stock de MO ciblés. Le premier serait plutôt lié à la séquestration de MO dans les sols et l'autre à sa déstabilisation. Comprendre comment piloter l'équilibre entre ces processus à travers les pratiques agricoles, permettrait d'améliorer durablement la fertilité des sols cultivés en milieu tropical dans un contexte de changement climatique.

Pour identifier les déterminants, les acteurs et les effets du climat et des pratiques agricoles sur les différents processus générateurs de PE, nous avons combiné la caractérisation physicochimique des sols, la caractérisation des communautés microbiennes et le suivi de la minéralisation des MO par les techniques isotopiques. Ainsi, nous avons pu identifier différentes populations bactériennes et fongiques, associées à chacun des processus, que nous avons classées dans des guildes fonctionnelles. La taille de ces guildes déterminait l'équilibre entre les processus, et était corrélée à la qualité de la MO présente dans le sol. Plus précisément, nous avons montré que le PE stœchiométrique était favorisé dans les sols enrichis en matière organique peu évoluée et en nutriments N et P, entretenant donc une forte communauté de décomposeurs. Ces décomposeurs devaient ainsi limiter l'accès des mineurs à la nouvelle matière organique fraichement apportée et limiter le PE par « nutrient mining ». Sur parcelles agricoles, nos résultats suggéraient que le non labour, l'association légumineuses-céréales, et l'apport de compost favorisaient ces décomposeurs responsables du priming effect stœchiométrique et donc potentiellement la stabilisation durable de la matière organique dans les sols.

Mots-clés : priming effect, diversité microbienne, matière organique, phosphore, ferralsols

iv

## Abstract

The priming effect (PE) is the supplementary mineralization of soil organic matter (MOS) after the addition of fresh organic matter. This phenomenon would be generated by two distinct mechanisms, stoichiometric decomposition and "nutrient mining", having their own dynamics, their own actors, their own determinants and their own MO stock targeted. The first would be related to the sequestration of MO in the soil and the other to its destabilization. Understanding how to manage the balance between these processes through agricultural practices, would allow to improve the fertility of soil cultivated in a tropical environment in a context of climate change.

To identify the determinants, actors and effects of climate and agricultural practices on the various processes generating PE, we have combined soil physicochemical characterization, characterization of microbial communities and monitoring of mineralization of MO by isotopic techniques. Thus, we were able to identify different bacterial and fungal populations, associated with processes, which we classified in the functional guilds. The size of these guilds determined the balance between the processes, and was correlated with the quality of the MO present in the soil. Specifically, we showed that stoichiometric PE was favored in soils enriched with high quality organic matter and nutrients, N and P, thus maintaining a strong community of decomposers. These decomposers also limit the access of miners to the provided new organic matter hence limiting PE by "nutrient extraction". On agricultural plots, our results suggest that non-tillage, legume-cereal rotations and compost amendments favor these decomposers responsible for the stoichiometric priming effect and thus potentially the long-term stabilization of organic matter in soils.

Key words: priming effect, microbial diversity, organic matter, phosphorus, ferralsols

# Table des matières

Liste des abréviations xi
Liste des figuresxv
Liste des tableauxxvii
Chapitre I : Introduction générale1
I. Le sol : une boîte noire à explorer2
I.1. Définition2
I.2. Milieu hétérogène2
I.3. Ecosystème complexe3
I.4. Les services écosystémiques fournis par le sol5
I.5. Les enjeux actuels7
I.6. L'Agroécologie9
I.7. Conclusion11
II. Matière organique : élément central de l'écosystème sol
II.1. Définition et rôle12
II.2. Nature et composition13
II.3. dynamique14
II.4. Minéralisation et/ou séquestration15
II.5. Conclusion16
III. Les déterminants de la minéralisation de la MO et/ou de la séquestration16
III.1. Les différents types de déterminants16
III.2. Les déterminants proximaux18
III.4. Les déterminants distaux : Le climat, les usages et pratiques culturales19
III.5. Conclusion21
IV. Les décomposeurs : acteurs de la transformation de la MO dans le sol22

	IV.1. Physionomies	22
	IV.2. Métabolismes	22
	IV.3. Répartition spatiale	25
	IV.4. Diversité génétique	25
	IV.5. phylogénie	26
	IV.6. Vers une classification plus fonctionnelle des microorganismes	30
	IV.7. Conclusion	32
V.	Le PE : mécanismes générateurs, conséquences et hypothèses	33
	V.1. Un phénomène intriguant : le « Priming Effect »	33
	V.2. Mécanismes générateurs	35
	V.3. Conséquences sur la séquestration du carbone et le recyclage des nutriments	38
	V.4. Hypothèses de travail	40
	V.5. Conclusion	43
VI.	Le Contexte de Madagascar	43
	VI.1. Diversité de paysages, climats et production végétales	43
	VI.2. L'insécurité alimentaire	46
	VI.3. Agriculture des Hauts plateaux	47
	VI.4. Le projet CAMMiSolE	48
	VI.5 Objectifs et réalisation de ce travail de thèse	49
Chapi	tre II : Soil microbial diversity drives the priming effect along climate gradients – A ca	se
study	in Madagascar	52
١.	Introduction	53
II.	Materials and methods	54
	II.1. Experimental site and soil sampling	54
	II.2. Soil characterization	55
	II.3. Molecular analyses of soil bacterial and fungal communities	57

II.4. Soil microcosm set-up and priming effect assessment	58
II.5. Total CO <sub>2</sub> and $^{13}$ C-CO <sub>2</sub> measurements	58
II.6. Statistics	58
III. Results	59
III.1. Soil physicochemical properties	59
III.2. Abundance and diversity of bacterial and fungal communities	59
III.3. C-mineralization	60
IV. Discussion	63
IV.1. Stoichiometric decomposition vs nutrient mining	63
IV.2. Microbial actors of C-mineralization processes	65
IV.3. Climatic determinants of C-mineralization activities	67
V. Conclusion	68
Transition entre chapitre II et chapitre III	70
Chapitre III : The priming effect generated by stoichiometric decomposition and	nutrient
mining in cultivated tropical soils: actors and drivers	73
I. Introduction	74
II. Materials and methods	76
II.1. Soils sampling	76
II.2. Physiochemical characterization	76
II.3. Incubation conditions	77
II.4. CO <sub>2</sub> and $^{13}$ CO <sub>2</sub> measurements	78
II.4. CO <sub>2</sub> and $^{13}$ CO <sub>2</sub> measurements II.5. DNA extraction, quantification and molecular analyses of s	78 oil bacterial
II.4. CO <sub>2</sub> and <sup>13</sup> CO <sub>2</sub> measurements II.5. DNA extraction, quantification and molecular analyses of so communities	78 oil bacterial 79
<ul> <li>II.4. CO<sub>2</sub> and <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> measurements</li> <li>II.5. DNA extraction, quantification and molecular analyses of s</li> <li>communities</li> <li>II.6. Statistical analyses</li> </ul>	78 oil bacterial 79 80
<ul> <li>II.4. CO<sub>2</sub> and <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> measurements</li> <li>II.5. DNA extraction, quantification and molecular analyses of s</li> <li>communities</li> <li>II.6. Statistical analyses</li> <li>III. Results</li> </ul>	78 oil bacterial 79 80 80

III.2. Effect of soil type, substrate quality and incubation time on substrate
mineralization (SM), PE and nutrient recycling82
III.3. Relationships between soil characteristics, C mineralization activities and
nutrient cycling
III.4. Implication of bacterial phyla in substrate mineralization and the PE
IV. Discussion
IV.1. Glucose-induced PE generation mechanisms
IV.2. Mechanisms generating a crop residue induced PE91
V. Conclusion92
Transition entre chapitre III et chapitre IV95
Chapitre IV : Land use and agricultural practices drive C-mineralization activities through
bacterial biomass and key fungal families in Madagascar Highlands97
I. Introduction98
II. Materials and methods100
II.1. Soil sampling strategy100
II.2. Soil characterization101
II.3. Molecular analyses of soil bacterial and fungal communities102
II.4. Soil microcosm set-up and priming effect assessment102
II.5. Total CO <sub>2</sub> and $^{13}$ C-CO <sub>2</sub> measurements102
II.6. Statistics
III. Results
III.1. Soil characteristics103
III.2. Microbial communities' properties104
III.3. Microbial actors of C-mineralization processes
III.4. Land use influence on C-mineralization processes
III.5. Correlations between biotic, abiotic soil characteristics and C-mineralization
processes

III.6. Influence of agricultural practices on soil characteristics and C-mineralization
processes
IV. Discussion
IV.1. Importance of microbial communities in C dynamic in agricultural soils109
IV.2. Determinants of microbial communities111
IV.3. How agricultural practices can drive C-mineralization activities
Chapitre V : Discussion et conclusion115
I. Les acteurs du PE : bactéries vs champignons116
I.1. Guilde des opportunistes119
I.2. Guilde des décomposeurs120
I.3. Guilde des mineurs121
II. Les déterminants proximaux123
III. Les déterminants distaux125
III.1. Le climat126
III.2. Les usages et pratiques agricoles127
IV. Quelles sorties appliquées pour ce travail ?130
Références bibliographiques134
AnnexesI
Annexe 1 : Chapitre II en photographiesII
Annexe 2 : Dataset 1 du chapitre II I
Annexe 3 : Dataset 2 du chapitre IIVIII
Annexe 3 : article sous presse à ISME journalXII
Annexe 4 : Chapitre III en photographiesXXIV
Annexe 5 : Figures et tableaux supplémentaires pour le chapitre IIIXXV
Annexe 6 : Chapitre IV en photographieXXVIII

# Liste des abréviations

7d	7 <sup>th</sup> day of incubation						
42d	42 <sup>th</sup> day of incubation						
A%	abondance isotopiques du carbone						
ADN / DNA	acide désoxyribonucléique / deoxyribonucleic acid						
ADNr / rDNA	ADN ribosomal / ribosomal DNA						
АТР	adénosine triphosphate						
ARN / RNA	acide ribonucléique / ribonucleic acid						
BD	bulk density						
BR	basal respiration						
av P	available phosphorus						
С	carbone						
<sup>13</sup> C	carbone 13						
<sup>14</sup> C	carbone 14						
C org	organic carbon						
C tot	total carbon content						
CO <sub>2</sub>	dioxyde de carbone						
C:N	carbon-to-nitrogen ratio						
CEC	capacité d'échange cationique/ cationic exchange capacity						
CAMMiSolE	effet du Changement global en Afrique de l'ouest et à Madagascar sur la diversité des Microorganismes du Sol et ses conséquences sur les services Ecosystémiques						
CUE	Carbon use efficiency						
Δ-	delta : the difference between abundance						

Eco&Sols	Ecologie fonctionnelle é biogéochimie des sols é agrosystèmes							
Evenness_B	bacterial evenness							
F	fraction							
FAO	Food and Agriculture Organisation							
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	iron oxide							
FOFIFA	Foibem-pirenena momba ny Fikarohana ampiharina amin'ny Fampandrosoana ny eny Ambanivohitra (Centre National de la Recherche Appliquée au Développement Rural)							
FOM	fresh organic matter							
FRB	Fondation pour la Recherche sur Biodiversité							
_Gp	group							
HMWC	high molecular weight compounds							
H <sub>2</sub> O	eau							
IAE	intégration agriculture élevage							
IFS	International Foundation for Science							
INRA	Institut national de la recherche agronomique							
INSTAT	Institut National de la Statistique							
IRMS	Isotopic ratio mass spectrometry							
IRD	institut de recherche pour le développement							
ISME	International Society for Microbial Ecology							
КСІ	chlorure de potassium							
LF	light fraction soil organic matter							
LMWC	low molecular weight compound							
LRI	Laboratoire des Radio-Isotopes							
MAE	Ministère des affaires étrangères							

- MAEP Ministère de l'agriculture, de l'élevage et de la pêche
- MAP mean annual precipitation
- MAT mean annual temperature
- MBC microbial biomass carbon
- MBN microbial biomass nitrogen
- MBP microbial biomass phosphorus
- MEA Millenium Ecosystem Assessment
- MESupReS Ministère de l'Enseignement Supérieur de la Recherche Scientifique
- MMB microbial molecular biomass
- MO / OM matière organique / organic matter
- MOE matière organique évoluée
- MOF / FOM matière organique fraiche / fresh organic matter
- MOS / SOM matière organique du sol / soil organic matter
- NADPH Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
- NCBI National Center for Biotechnology Information
- N azote
- NH<sub>4</sub> ammonium
- NH4<sup>+</sup> ion ammonium
- Nmin azote minéral
- $NO_3 / NO_3^-$  nitrate / ion nitrate
- Ntot total nitrogen content
- OMGF Organic matter granulometric fractions
- ONG / NGO organisation non gouvernemental / none governmental organization
- OS- off season
- OTUs operational taxonomic units

Р	phosphore								
P org	phosphore organique								
РОМ	Particulate organic matter								
PCR	polymerase chain reaction								
PE	priming effect								
RDPII	The Ribosomal Database Project								
RM	rice mineralization								
SIP	Stable Isotope Probing								
SM	straw mineralization								
SOC	soil organic carbon								
SOM	soil organique matter								
UMMISCO	Unité Mixte Internationnale de Modélisation Mathématique et Informatiques des Systèmes Complexes								
WM	wheat mineralization								
WSC	Water saturation capacity								

# Liste des figures

# Chapitre I

Figure 1 : Pratiques agroécologiques soutenant la résilience de l'agroécosystème face aux changements climatiques
Figure 2 : Continuum de matières organiques dans les sols (d'après Lehman et Kleber, 2015) 13
Figure 3 : Schéma conceptuel des influences des déterminants de la minéralisation21
Figure 4: Effets du changement de l'efficacité d'utilisation du C (CUE) sur la séquestration du C dans les sols (d'après Manzoni et al., 2012)24
Figure 5 : Les divisions phylogénétiques majeures au sein des bactéries (extrait de Killham and Prosser, 2007)
Figure 6 : Groupes phylogénétiques majeurs des champignons (extrait de Thorn & Lynch dans Soil Microbiology and Biochemistry
Figure 7 : Schéma du priming effect (d'après Kuzyakov, 2000)34
Figure 8 : Mécanismes potentiels de génération du priming effect (d'après Fontaine et al. 2003)
Figure 9 : Lien conceptuel entre théorie du "N mining" et théorie stoechiométrique
Figure 10 : carte pédologique de Madagascar. Classification FAO de 1974
Figure 11: Paysage agricole typique des Hauts plateaux, région Itasy

# Chapitre II

Figure 1: Map of the study region	.56
Figure 2: Cumulative histogram plot of (A) basal respiration, (B) straw mineralization and PE at 7 and 42 days of incubation of the 41 sampled soils	(C) .61
Figure 3: Biplot representation of the Principal Component Analysis (PCA) performed on t	the
40 biotic and abiotic variables measured on the 40 soils sampled	64
Figure 4: Conceptual scheme of the driving mechanisms of mineralization adapted from Ch	nen
et al. (2014)	69

## Chapitre III

Figure	2: Variance	partitioning,	at each	incubation	time,	of substra	ate minera	lization	and
Pr	riming Effec	t between the	Delta-ba	cterial phylo	ogenet	ic groups	positively o	orrelate	d to
ea	ach of both	previously cite	ed activit	ies					87

## **Chapitre IV**

Figure 1: Histogram plot of mean Basal Respiration (BR), Straw Mineralization (SM) and
Priming Effect (PE) calculated per land use106
Figure 2: Biplot representation of the principal component analysis (PCA) calculated on soil
biotic and abiotic variables108
Figure 3: Conceptual diagram relating the correlations network between agricultural
practices, soil abiotic and biotic parameters, microbial functional groups and C-
mineralizations109

## **Chapitre V**

Figure 1 : Schéma conceptuel des processus de génération du priming effect......117

## Liste des tableaux

# Chapitre I Tableau 1 : Distribution des sols malgaches selon la classification de la FAO......45 Tableau 2 : Tableau récapitulatif des 3 études ......51

## **Chapitre II**

Table	1: Partial correlation matrix between climatic variables, and C mineralization activities
	registered at both incubation times60
Table	1: Partial correlation matrix between the biotic and abiotic variables, retained to build
	the PCA (Fig. 3), and C mineralization activities registered at both incubation times62

## **Chapitre III**

Table 1: Biochemical characterization of amended substrates
Table 2: Biotic and abiotic characterization of the three studied soils
Table 2 : Partial Correlation matrix (Pearson (n)) between carbon cycling activities and soil
parameters at 0 days or at different incubation time (7 and 42 days) in function of the
amended substrate84

## **Chapitre IV**

Table 1 : Agricultural practices conducted by smallholder famers on the sampled plots during									
the season of sampling and the off-season									
Table	2:	Pearson	correlation	coefficients	between	microbial	families	and	C-
mineralizations10							L05		

## **Chapitre V**

Tableau 2 : Déterminants proximaux des deux processus de génération du PE dans chacune
des 3 études123
Tableau 3 : Déterminants distaux des deux processus de génération du Pe dans chacunes des
3 études126

Chapitre I : Introduction générale

Chapitre I : Introduction générale

## I. <u>Le sol : une boîte noire à explorer</u>

#### I.1. Définition

Le sol, présent sur les surfaces émergées du globe est formé d'une phase solide comprenant les minéraux et la matière organique (MO), d'une phase liquide constituée de solution de sol, et d'une phase gazeuse. Il peut atteindre quelques décimètres à plusieurs mètres de profondeur et est organisé en plusieurs horizons. Les horizons du sol se distinguent les uns des autres par des critères comme la couleur, la texture et la structure. La couleur du sol traduit les variations en constituants organiques et en oxydes et la structure traduit les variations d'assemblages des constituants minéraux et organiques. Les sols résultent de l'altération, sur plusieurs millénaires, des roches mères sous-jacentes faisant ainsi du sol une ressource non renouvelable à l'échelle d'une vie humaine. La formation des sols dépend de la nature de la roche, de la topographie, de l'action du climat, des transformations chimiques des solutions en contact avec les roches et de l'activité biologique (Soil Survey Staff, 1999).

## I.2. Milieu hétérogène

A l'échelle de l'horizon, le sol est organisé en agrégats de tailles variables résultant du réarrangement des particules qui le constituent. Les agrégats sont donc constitués de sables, limons, argiles, matières organiques, poils racinaires, microorganismes et de dérivés microbiens. Leur formation, étudiée et discutée depuis les années 1900, est conditionnée par les teneurs en carbone organique, en argile et carbonate mais également par l'activité biologique (faune du sol, microorganismes, racines) et par les conditions environnementales (Six et al., 2004; Bronick and Lal, 2005; Fortuna, 2012). De nombreuses théories ont été posées pour expliquer la distribution et la stabilité des agrégats et ainsi l'hétérogénéité spatiale du sol. Tisdall et Oades (1982) ont proposé un concept de hiérarchie des agrégats postulant que les particules primaires du sol seraient d'abord liées ensemble dans les microagrégats par des agents liants persistants (complexes de cations métalliques, matière organique humifiée, argiles,...). Ces micro-agrégats stables seraient ensuite liés ensemble par des agents liant transitoires (hyphes fongiques, racines, polysaccharides microbiens,...) pour former les macro-agrégats (Six et al., 2004). En 1984, Oades a ensuite émis l'hypothèse qu'à l'issue de la décomposition des agents liants des macro-agrégats, les micro-agrégats stables se formaient autour de la matière organique nouvellement humifiée au centre des macroagrégats après la décomposition des agents liants des macro-agrégats (Six et al., 2004).

Les micro-agrégats ont un diamètre allant de 20 à 250  $\mu$ m et sont formés à partir de molécules organiques liées à l'argile et à des cations polyvalents. Les macro-agrégats ont un diamètre allant de 250  $\mu$ m à plusieurs centimètres et sont formés autour de matières organiques particulaires (Six *et al.*, 2004; Bronick and Lal, 2005; Fortuna, 2012).

Le sol présente également un réseau de macro- et micropores constituant 50% de son volume total et permettant la diffusion des phases gazeuses et liquides. Les macropores, d'un diamètre supérieur à 10 µm et situés entre les agrégats et à l'intérieur des macro-agrégats, permettent la circulation de l'eau. Les micropores, d'un diamètre inférieur à 10 µm et situés dans les micro-agrégats, permettent la rétention de l'eau capillaire (Monrozier *et al.*, 1991 in Ranjard and Richaume, 2001). La surface interne des pores est également hétérogène dans sa composition en matériaux inorganiques et organiques. Ce réseau permet ainsi la coexistence de pores saturés et désaturés (Young *et al.*, 2008) entrainant des gradients en eau, en solutés minéraux et en conditions chimiques (Carminati *et al.*, 2008 in Young *et al.*, 2008). Le sol a longtemps été considéré comme une boîte noire opaque au fonctionnement chaotique car il est caractérisé par une hétérogénéité spatiale et temporelle. De plus, plus les études se concentrent sur de petites échelles d'organisation, plus l'hétérogénéité du sol et la diversité biologique sont grandes.

### I.3. Ecosystème complexe

Plus qu'un support physique, le sol crée une mosaïque d'habitats connectés, qui est à l'origine de la distribution hétérogène de la biodiversité et de l'activité microbienne (Ranjard and Richaume, 2001 ; Tarlera *et al.*, 2008 in Young *et al.*, 2008). Ainsi, le sol est un écosystème à l'interface de la lithosphère, de l'atmosphère, de l'hydrosphère et de la biosphère dont la complexité est le principal déterminant de sa diversité (Young *et al.*, 2008). Cependant, les relations entre l'hétérogénéité de distribution des micro-habitats et les fonctions du sol sont encore mal connues.

Le sol est un milieu où tous les domaines du vivant sont représentés. Un gramme de sol peut contenir 6000 génomes bactériens, plusieurs mètres d'hyphes fongiques et un grand nombre d'animaux (Fortuna, 2012). Les organismes du sol peuvent être classés selon leur taille. La macrofaune regroupe les organismes de l'ordre du centimètre tels les enchytréides, vers de terres et macro-arthropodes. La mésofaune regroupe les organismes de l'ordre du millimètre tels les micro-arthropodes, collemboles et mites. La microfaune regroupe les organismes de l'ordre de 10-100 micromètres tels les nématodes et protozoaires. Enfin, les microorganismes regroupent les bactéries et les champignons. Le sol peut abriter plus de 10<sup>9</sup> bactéries par gramme représentant 4000 à 7000 génomes différents. Les organismes du sol peuvent également être classés en grands groupes fonctionnels :

- Les décomposeurs, ou ingénieurs chimiques, principalement microbiens, sont impliqués dans le recyclage de la MOS et les cycles biogéochimiques.
- Les microrégulateurs, appartenant principalement à la microfaune, régulent les populations microbiennes par prédation.
- Les ingénieurs du sol, comprenant des organismes de la macrofaune et de la mésofaune, participent à la structuration du sol et à la dégradation de la matière organique fraiche (MOF) arrivant au sol.

La distribution spatiale des microorganismes et de leur activité a été décrite à des échelles allant de l'individu au paysage (Maron *et al.*, 2011). Elle résulte de l'influence de paramètres environnementaux mais également de paramètres intrinsèques à la communauté microbienne (Ettema and Wardle, 2002 in Young *et al.*, 2008). Une analyse géostatistique de la distribution de PLFA a montré que des sous-ensembles des communautés et leur capacité à utiliser différents substrats étaient spatialement organisés en patch de différentes tailles (Ritz *et al.*, 2004 in Young *et al.*, 2008).

Les contraintes de diffusion des cellules microbiennes et de la faune sont considérées comme les principaux déterminants de la diversité, de la distribution et des interactions entre groupes fonctionnels. Les ingénieurs du sol, tels les vers de terre, peuvent ingérer les microorganismes du sol. Il a été supposé que le contact avec le mucus des vers de terre, riche en éléments, permettait d'activer les bactéries en dormance dans le sol. Ce contact peut se passer dans le tube digestif ou sur les parois des galeries des vers de terre et induirait une augmentation de la respiration microbienne (Bernard *et al.*, 2012). La présence de protozoaires et nématodes entraine un changement de la composition des communautés bactériennes, ce qui implique qu'il existe une prédation sélective des bactéries. Les nématodes et protozoaires bactériores présentent différents modes de prédation et d'ingestion des cellules bactériennes (Rønn *et al.*, 2012). Les protozoaires sont capables de capturer les bactéries passivement par interception directe, par filtration ou par l'élaboration de pièges ou activement par prédation des bactéries présentes à la surface des pores (Rønn *et al.*, 2012). Les nématodes ingèrent les bactéries par aspiration et filtrage de la solution du

sol et ont la capacité de dégrader physiquement les amas de bactéries et la paroi des cellules (Rønn *et al.*, 2012). Ainsi la prédation contribue à la régulation des populations bactériennes. Cependant, l'intensité de prédation dépend de la texture du sol (Ranjard and Richaume, 2001).

Les nématodes semblent pouvoir se nourrir de protozoaires. Il a été observé que la prédation de protozoaires pouvait avoir une importance dans le transfert de la biomasse bactérienne vers les niveaux trophiques supérieurs quand les nématodes sont dans l'impossibilité d'atteindre ou d'ingérer les bactéries (Rønn *et al.*, 2012).

En raison de la structuration du sol, les interactions entre groupes fonctionnels sont concentrées dans des micro-habitats tels que la rhizosphère qui est riche en matière organique labile provenant de la rhizodéposition (exsudation racinaires, cellules de la coiffe, racines sénescentes...). Ces rhizodépôts stimulent la biomasse et l'activité microbienne à la surface des racines et font que la rhizosphère est une zone d'activité microbienne et d'interactions entre groupes fonctionnels (Bonkowski, 2004). La communauté activée par les exsudats racinaires est typiquement constituée de bactéries à croissance rapide entrant en compétition avec les plantes pour les nutriments et immobilisant les nutriments. Mais ce désavantage pour les plantes est temporaire puisque l'augmentation des populations bactériennes attire les prédateurs qui contrôlent fortement ces populations. La prédation mène à une re-minéralisation des nutriments provenant de la biomasse microbienne, les rendant ainsi à nouveau disponibles pour les plantes (Bonkowski, 2004).

Dans ce travail de thèse nous nous sommes restreints aux décomposeurs car ils sont à la base des transformations des matières organiques et donc au cœur des réactions de recyclage du carbone (C) et des nutriments.

## 1.4. Les services écosystémiques fournis par le sol

Les sols étant des systèmes dynamiques, ils génèrent une multitude de fonctions soutenant plusieurs services écosystémiques. Les services écosystémiques peuvent être définis comme des flux bénéfiques découlant des atouts naturels et remplissant les besoins humains (Adhikari and Hartemink, 2016). Ceux rendus par le sol dépendent des processus du sol et de ses propriétés physico-chimiques et biologiques ainsi que de l'interaction entre compartiments minéral et biologique du sol (Adhikari and Hartemink, 2016; Jónsson and

Davíðsdóttir, 2016; Dominati *et al.*, 2010). Relativement peu d'études ont lié les propriétés des sols aux services écosystémiques en zone Africaine (Adhikari and Hartemink, 2016; Jónsson and Davíðsdóttir, 2016; Dominati *et al.*, 2010).

Le Millenium Ecosystem Assessment (2005, MEA) a regroupé les services écosystémiques en 4 catégories : les services (i) de support, (ii) d'approvisionnement, (iii) de régulation, et (iv) culturels. Les sols sont à la base de la fourniture de la plupart de ces services (Adhikari and Hartemink, 2016; Jónsson and Davíðsdóttir, 2016; Dominati *et al.*, 2010).

Les processus du sol permettent notamment la maintenance de l'équilibre dynamique supportant la fourniture de plusieurs services écosystémiques (Dominati et al., 2010). Ils fournissent un réservoir de biodiversité qui favorise la résilience du sol aux perturbations. Le développement des sols fournit notamment les couches arables du sol, environnement physique nécessaire à l'agriculture. Le sol permet également la régulation du recyclage des nutriments qui maintient ainsi sa fertilité via les échanges d'éléments minéraux entre ses composantes abiotiques et abiotiques. Enfin, les sols abritent une partie du cycle de l'eau et fournissent ainsi une réserve en eau potable. Les sols fournissent également des services de régulation (Adhikari and Hartemink, 2016; Jónsson and Davíðsdóttir, 2016; Dominati et al., 2010). Le sol permet le contrôle biologique des parasites et maladies via compétition, prédation et parasitisme. Il permet également la régulation du climat et des émissions de gaz à effet de serre. Le sol a une capacité de stockage et rétention d'eau qui réduit l'impact des inondations, sècheresses et de l'érosion. La biodiversité du sol joue également un rôle important dans la décomposition et dégradation de la MO mais aussi des composés toxiques. Les sols fournissent également des services d'approvisionnement (Adhikari and Hartemink, 2016; Jónsson and Davíðsdóttir, 2016; Dominati et al., 2010). Le pouvoir tampon et la capacité de filtration du sol sont des services cruciaux les réserves d'eau potable souterraines et de surface. Les sols fournissent un support physique pour les infrastructures urbaines, l'agriculture et l'élevage. Ils sont également utilisés directement par l'homme comme une source de matière première pour les constructions urbaines ou les médicaments. Enfin, les sols fournissent des services culturels et esthétiques tels que le maintien des archives géologiques, écologiques et archéologiques (Adhikari and Hartemink, 2016; Jónsson and Davíðsdóttir, 2016; Dominati et al., 2010). Plusieurs études ont notamment souligné le rôle important des sols dans plusieurs services écosystémiques tels que la séquestration de

carbone et le support de la sécurité alimentaire (Lal, 2004 in Adhikari and Hartemink, 2016). Cependant, comme pour toute ressource naturelle, la formation et la dégradation du capital sol évolue avec le temps (Dominati *et al.*, 2010) faisant ainsi du maintien de sa durabilité un des enjeux planétaires actuels.

Dans ce travail de thèse, nous nous sommes concentrés sur les services de régulation du climat et de fertilité des sols via le stockage de carbone (C) et le recyclage des nutriments. Ces deux services sont notamment liés à l'activité des organismes du sol mais également aux propriétés physico-chimiques du sol. Le sol peut agir comme source mais également comme puits de carbone via le stockage de C organique. L'amélioration du stock de matière organique (MO) dans les sols permettrait d'augmenter sa fertilité en favorisant le recyclage des nutriments ainsi incorporés avec le carbone.

### I.5. Les enjeux actuels

Le sol est fondamental, non renouvelable à l'échelle humaine et irremplaçable car il gouverne la productivité végétale et maintient les cycles biogéochimiques grâce à la dégradation des composés organiques par les microorganismes. Cependant, il est soumis à la pression croissante du changement de la couverture végétale et des pratiques agricoles (Smith et al., 2016). La déforestation a causé en moyenne 25% de perte de carbone du sol. Entre 2000 et 2010, la déforestation a principalement touché les régions tropicales et le déboisement dans ces régions émet 3 fois plus de carbone par tonne de production annuelle que dans les régions tempérées (Smith et al., 2016). La population mondiale a dépassé 7 milliards d'habitants en 2016. Pour nourrir correctement une telle population, la production végétale destinée à l'alimentation des hommes et du bétail devra doubler dans l'ensemble du monde. Les terres aujourd'hui exploitées représentent environ la moitié des terres arables et les techniques durables sont sous-utilisées. La production végétale devra ainsi tripler dans les pays en développement, voire quintupler en Afrique pour assurer la sécurité alimentaire (Mazoyer, 2008). Pour cela, l'activité agricole devra être étendue et durablement intensifiée sans porter atteinte à l'écosystème. Le sol étant un bioréacteur structurellement dynamique, son fonctionnement pourrait, en principe, être optimisé pour atteindre des objectifs de production en influençant sa dynamique et plus particulièrement celle des éléments nutritifs (Young et al., 2008). La durabilité des agrosystèmes passe ainsi par une gestion « écologique » de ces systèmes. Il est ainsi nécessaire de passer à des pratiques agricoles tenant compte du

fonctionnement et de l'équilibre dynamique des écosystèmes pour renforcer la résilience des agrosystèmes. De plus, passer de monocultures à des polycultures, des systèmes agroforestiers ou des rotations de cultures renforcera la résilience des agriculteurs et des communautés rurales face aux aléas climatiques (Altieri *et al.*, 2015). Ce changement a été initié avec l'agroécologie et l'ingénierie écologique permettant l'exploitation et l'optimisation des processus écologiques fournissant des services écosystémiques (FAO, 2014 ; Altieri *et al.*, 2015).

Un des principaux enjeux actuels est également la mitigation du changement climatique. Les activités humaines sont responsables d'une augmentation des teneurs en gaz à effet de l'atmosphère. L'instabilité climatique et météorologique serre dans affectera l'approvisionnement et l'accès à la nourriture, altérant ainsi la stabilité économique et sociale des états. Les sols jouent un rôle important dans la régulation du climat car ils représentent un stock de 2400 Gt de carbone (C) stocké sous forme de matière organique (IPCC, 2013). Ainsi, en fonction de leurs propriétés, du climat ou de l'usage des terres, les sols peuvent libérer du CO<sub>2</sub> dans l'atmosphère ou se comporter comme un puits de C (Lal, 2004; Bradford et al., 2016). Un des leviers majeurs pour stopper l'augmentation de la concentration de CO2 atmosphérique serait d'accroître, à l'échelle mondiale le stock de C dans le sol de 0,4 % (Paustian et al., 2016). C'est dans cet optique que le gouvernement français a proposé, lors de la COP21, l'initiative « 4 pour 1000 pour la sécurité alimentaire et le climat » (http://4p1000.org/). Cette initiative a pour objectif d'agir au niveau mondial pour un meilleur stockage du C dans les sols agricoles (Freibauer et al., 2004; Minasny et al., 2017). Une augmentation du stock de C organique des sols permettrait ainsi de lutter contre l'augmentation d'émission de gaz à effet de serre (Bradford et al., 2016) mais serait également bénéfique pour la fertilité des sols, à condition que la MO stockée soit une matière organique évoluée riche en nutriments (Batjes and Sombroek, 1997; Minasny et al., 2017).

Ces enjeux nécessitent une amélioration des connaissances mondiales sur les sols pour comprendre l'effet des changements d'usage et des changements climatiques sur les propriétés du sol à l'échelle planétaire (Smith *et al.*, 2016). Ils nécessitent également l'implication locale des agriculteurs, de leurs savoirs, savoir-faire et besoins. L'agriculture traditionnelle est un réservoir de savoirs et savoir-faire qui pourraient aider les agrosystèmes modernes à résister aux aléas climatiques. D'autant plus dans les pays des zones tropicales et

en développement qui souffriront plus et plus rapidement des effets du changement climatique sur leurs productions végétales à cause de conditions agro-climatiques, socioéconomiques et technologiques défavorables.

#### I.6. L'Agroécologie

Environ 38% des terres émergées est utilisée pour la production alimentaire, faisant ainsi de l'agriculture l'activité humaines perturbant la plus grande surface des terres émergées (Wilson and Lovell, 2016). Des pertes de sol sont constatées dans plusieurs paysages agricoles et la qualité des sols restants tend à diminuer. Pour contrecarrer ces pertes, l'agriculture moderne est devenue dépendante des intrants (énergie fossile, fertilisants) et des monocultures de variétés génétiquement sélectionnées pour leurs rendements sont propagées à travers le monde. Or il a été observé que cette uniformité génétique des cultures à l'échelle du paysage a rendu les cultures plus sensibles aux aléas climatiques et aux ravageurs entrainant, dans l'Histoire, plusieurs crises alimentaires (Altieri *et al.*, 2015). De plus, ces pratiques agricoles entrainent une dégradation des écosystèmes et des contraintes sociales (Gliessman, 2014 in FAO 2014). Dans ce contexte, l'agroécologie est apparue comme une alternative à l'agriculture conventionnelle dès les années 1920.

Le terme d'agroécologie est apparu dans la littérature scientifique dans les années 1930 et faisait référence aux études scientifiques des interactions biologiques entre les monocultures et les différents composants des agrosystèmes à l'échelle de la parcelle (Sicili, 2014). C'est dans les années 1960 que l'agroécologie s'est progressivement élargie pour englober une approche interdisciplinaire des agrosystèmes liant les considérations agronomiques, écologiques, socio-économiques et politiques (Gliessman, 2014 in FAO 2014). Mais c'est durant les années 1980, qu'apparaissent les premiers programmes de recherche promouvant les pratiques agroécologiques dans les pays développés et en développement, notamment au Mexique et en Amérique du Sud (Gliessman, 2014 in FAO 2014).

L'agroécologie a été définie comme un domaine où la science, la pratique et les mouvements sociaux convergent. La définition la plus communément utilisée pour l'agroécologie est « l'application de concepts et principes écologiques pour concevoir et gérer des agroécosystèmes durables ». Pour cela, l'agroécologie est basée sur plusieurs principes remettant le fonctionnement des écosystèmes au cœur des processus de production où la nature est considérée comme un support de la production (Sicili 2014). Parmi ces principes,

on compte le recyclage et l'utilisation optimale des matières organiques et énergies de l'exploitation, l'utilisation des fonctions écologiques et des synergies de l'agroécosystème, la diversité spécifique et génétiques des cultures et l'utilisation de variétés locales.

L'objectif de l'agroécologie est de faire des agrosystèmes des systèmes durables équilibrant viabilités économique et écologique. Plusieurs systèmes agricoles traditionnels offrent un éventail de gestions des systèmes favorisant la résilience des agroecosystèmes telles que le non-labour, le mélange de cultures, les jachères, l'intégration agriculture-élevage (IAE) et l'agroforesterie (Gliessman, 2014 in FAO 2014). Le non-labour, ou le labour minimum, permet d'améliorer la structure des sols. Le mélange de cultures permet de favoriser la biodiversité du sol. La mise en place de jachère ou de cultures de couverture permet le renouvellement des stocks de nutriments dans les sols. L'IAE permet l'utilisation optimale des MO favorisant ainsi le recyclage des nutriments. L'agroforesterie permet le maintien et l'amélioration de la structure et de la fertilité des sols. Ainsi les pratiques agroécologiques soutiennent la sécurité alimentaire en permettant aux agriculteurs de stimuler et diversifier leurs production, de stabiliser les rendements et de diminuer la dépendance aux intrants.

Cependant, l'intégration des connaissances et savoir-faire des agriculteurs locaux n'est pas suffisante en agroécologie. Une bonne connaissance des processus sous-jacents est également nécessaire pour proposer des pratiques adéquates aux contextes et attentes



*Figure 1 : Pratiques agroécologiques soutenant la résilience de* vulnérabilité aux changements *l'agroécosystème face aux changements climatiques* 

locales. Les avantages de l'expansion de l'agroécologie à travers le paysage incluraient une plus grande agrobiodiversité et ainsi une plus grande résilience climatique (Altieri *et al.*, 2015).

Plusieurs stratégies agroécologiques peuvent être appliquées au niveau de l'exploitation pour réduire la vulnérabilité aux changements climatiques et pour améliorer la production de biomasse tout en stockant du carbone dans les sols (Fig.1 ; Altieri *et al.*, 2015 ; Derrien *et al.*, 2016).

La première est la gestion du stock de matière organique du sol (MOS). La MOS est essentielle au bon fonctionnement des processus écologiques car elle favorise l'activité biologique et de bonnes caractéristiques physiques et chimiques ; elle est la source d'énergie de l'écosystème. Elle améliore la rétention d'eau dans les sols mais aussi l'agrégation des sols de surface et favorise une biodiversité pouvant influencer la productivité du sol (Altieri *et al.*, 2015). Le stockage et la stabilisation de C dans les sols agricoles dépendent en premier lieu des usages des 30 premiers centimètres des sols (Derrien *et al.*, 2016). Ainsi, l'intensité de prélèvement des végétaux (récoltes, pâturages, etc.) peut également être compensée par l'apport de matières organiques exogènes tels que les déjections animales, les composts ou les résidus de cultures.

Le choix des espèces végétales cultivées a également un effet sur la qualité chimique des MOS. Cela modifie les processus sous-jacents au cycle du C dans les sols ainsi que la stabilité de cette MOS. Par exemple, l'association de légumineuses et de graminées favorise le stockage de carbone dans le sol. De plus, la mise en œuvre de pratiques permettant le maintien d'un couvert végétal permettrait d'augmenter les entrées de MO au sol et ainsi les entrées de C (Derrien *et al.*, 2016).

Les pratiques d'agroforesterie, combinant arboriculture et cultures vivrières, permettent la réduction de l'érosion du sol et du lessivage des nutriments et pesticides, la séquestration de carbone, l'amélioration de la qualité du sol et le maintien de la biodiversité du sol. De plus, l'agroforesterie peut fournir aux exploitants agricoles des sources complémentaires de revenus telles que la production de fruits ou de bois de chauffe (Wilson and Lovell, 2016).

### I.7. Conclusion

Le sol est un écosystème qui a longtemps été considéré comme un simple support des activités humaines. Il a été géré sans prise en compte de tous les compartiments qui le constituent, de sa complexité et de son fonctionnement impliquant une grande diversité biologique. Le sol est de plus fortement perturbé par l'activité humaine et l'agriculture représente la plus grande surface des terres émergées exploitées pour leurs services écosystémiques. L'agriculture a longtemps été pratiquée en s'affranchissant des capacités du

sol pour en tirer des services écosystémiques. Cela a ainsi entrainé une perturbation de l'équilibre fonctionnel des sols, une érosion accrue entrainant une perte rapide du carbone stocké dans les sols. Le sol est le compartiment de la biosphère contenant le plus de carbone avec un stock de 2500 Gt de C dont en 1500 Gt présents sous forme organique et 950 Gt sous forme inorganique. Ainsi, une déstabilisation même partielle de ce stock peut entrainer des variations conséquentes des concentrations atmosphériques en gaz à effet de serre (CO<sub>2</sub> notamment). De plus, la conversion de sols « naturels » en sols agricoles entraine, en moyenne, une diminution du stock de carbone de 60% dans les sols des régions tempérées et d'au moins 75% dans les sols des régions tropicales (Lal, 2004). Ainsi, l'objectif actuel des agronomes et des chercheurs est de trouver les pratiques agricoles qui vont permettre une augmentation des stocks par la stabilisation du carbone dans les sols. Pour cela, il est nécessaire de comprendre la dynamique des MOS et de connaître les mécanismes conduisant à leur humification.

## II. <u>Matière organique : élément central de l'écosystème sol</u>

## II.1. Définition et rôle

La matière organique du sol (MOS) est constituée de composés très divers allant des débris et matériaux végétaux, encore reconnaissables à l'œil nu, aux petites molécules du type acides carboxyliques, protéines, acides gras, etc. (Lützow *et al.*, 2006 ; Lehmann and Kleber, 2015). La composition de cette MOS est dépendante des entrées en végétaux, dont la nature et la fréquence sont déterminées par le couvert et les pratiques agricoles en parcelles cultivées. La nature de la MOS est également le résultat et de la décomposition microbienne, les microorganismes étant à l'origine de la dynamique de transformation de ces résidus végétaux en MO évoluée communément appelée humus. Comme déjà énoncé précédemment, la MOS est la forme principale de stockage de carbone dans le sol (1550 Gt C) ; elle a donc **un rôle majeur dans la régulation du climat (**Derrien *et al.*, 2016 ; Agren, 2010). Mais la MO évoluée, qui en compose la grande majorité, est également riche en N et P, ce qui lui confère un rôle de réservoir en nutriments pour les plantes et donc **un rôle central dans la fertilité** du sol. La MOS sous sa forme humifiée se complexe avec les minéraux, et notamment les argiles, pour donner des complexes argilo-humiques qui confèrent au sol sa structure et sa **résistance à l'érosion**. Enfin la diversité physique et biochimique de ses composés génère une **diversité de**  **micro-habitats** permettant d'abriter une multitude de microorganismes spécialisés dans la décomposition de chacun de ces composés.

## II.2. Nature et composition

La MOS englobe la matière organique vivante (organismes du sol, racines de végétaux...), la matière organique fraiche (MOF), constituée de résidus végétaux et d'exsudats racinaires, et la matière organique évoluée (MOE) composée de résidus microbiens, de matériaux végétaux non reconnaissables et de substances humiques (Kögel-Knabner, 2002; Schaeffer *et al.*, 2015). Elle forme ainsi un continuum constitué d'un large spectre de matériaux organiques (Fig. 2), issus de la litière et des produits microbiens, de différentes structures moléculaires (Knicker, 2011; Cotrufo *et al.*, 2013; Thiessen *et al.*, 2013) et qui sont à différents étapes de décomposition (Lehmann and Kleber, 2015; Schaeffer *et al.*, 2015).



### Figure 2 : Continuum de matières organiques dans les sols (d'après Lehman et Kleber, 2015)

La MOS dérivée de la matière végétale est constituée à 50% de C. Ce carbone y est présent sous de nombreuses formes chimiques allant des composés solubles à faible poids moléculaire à des lipides insolubles et des monomères à des polymères complexes (Cotrufo *et al.*, 2013). La MOS dérivée des microorganismes du sol est principalement constituée de protéines, lipides et chitine fongique mais également d'azotes non protéiques, polysaccharides et composés aromatiques (Kallenbach *et al.*, 2016). Dans le sol, la MO correspond à un continuum d'état entre la MO labile riche en carbone à signature végétale, et la MO évoluée riche en N et P à signature microbienne. La MO labile est principalement constituée de composés à faible poids moléculaires qui sont rapidement déstabilisés par les microorganismes. A l'opposé, la MO évoluée est principalement constituée de composés à fort poids moléculaires et à structures complexe qui sont lentement déstabilisés par les microorganismes. Ainsi, le turnover de la MOS dépend notamment de sa qualité.

### II.3. dynamique

La décomposition des résidus végétaux par les microorganismes entraine l'évolution de la MO depuis une matière organique fraiche jusqu'à sa stabilisation sous une forme communément appelé humus. Au fur et à mesure de cette décomposition, les métabolites et matériaux cellulaires liés à l'anabolisme microbien sont relâchés dans le sol à la mort des cellules et y sont soumis à leur tour à la décomposition (Cotrufo et al., 2013; Lehmann and Kleber, 2015). Cependant, sous l'action de phénomènes physiques, une part de ces résidus microbiens se complexent peu à peu pour donner à très long terme une matière organique sans structure et très récalcitrante, de type colloïdale, qui est l'humus. Ainsi, l'humus a principalement une signature microbienne, qui lui confère cette richesse en N et P ; il est caractérisé par un désordre moléculaire qui ralentit considérablement sa décomposition par les enzymes et requiert de l'énergie. Cette récalcitrance constitue la voie biochimique de stabilisation de la matière organique dans le sol. La MOS peut également être physiquement protégée de la décomposition via l'occlusion dans des agrégats ou par encapsulation hydrophobique (Dungait et al., 2012; Cotrufo et al., 2013). Cela rend ainsi la MOS inaccessible aux enzymes extracellulaires et engendre des contraintes environnementales limitant l'activité microbienne. En effet, quand un résidu végétal est incorporé au sol, les microorganismes à sa surface commencent leur travail de décomposition et sécrètent des exopolysaccharides qui vont les protéger de l'environnement extérieur mais également agréger des particules minérales pour former des micro-agrégats (Six et al., 2000 ; Oades 1984 in Six et al., 2004). La décomposition se continue à l'intérieur de ces micro-agrégats jusqu'à ce que les microorganismes soient limités par les conditions environnantes. La stabilité structurale du micro-agrégat empêchant tout apport nouveau venant de l'extérieur (O2, nutriments...), la MOS est donc physiquement protégée de la décomposition. La récalcitrance biochimique et la protection physique permettent une stabilisation de la MOS sur le moyen terme (Dungait et al., 2012; Cotrufo et al., 2013). Enfin la MOS peut être protégée de la biodégradation en raison de ses caractéristiques chimiques et sa capacité d'adsorption sur les minéraux du sol. Ce mécanisme est lié à la quantité et la qualité des limons et argiles présents dans le sol. Ceux-ci peuvent emprisonner la MO entre leurs feuillets de phyllosilicates et à plus

forte raison dans les sols acides. Ce mécanisme permet ainsi une stabilisation physicochimique, sur le long terme, de la MOS dans des complexes organo-minéraux.

## II.4. Minéralisation et/ou séquestration

La décomposition de la matière organique entrant dans le sol comprend plusieurs étapes de dégradation des molécules organiques sous l'action de la faune du sol et des microorganismes. Cette dégradation progressive des molécules organiques entraine la formation de molécules organiques stables accompagnée d'une la libération de CO<sub>2</sub> dans l'atmosphère et de molécules inorganiques dans la solution du sol. Ce processus est la minéralisation. Les molécules inorganiques libérées peuvent ensuite être assimilées par les plantes, adsorbées sur la phase minérale du sol, perdues par lessivage ou être incorporées dans la biomasse microbienne et ainsi réintégrer la matière organique vivante du sol. Ainsi, la minéralisation ne mène pas systématiquement au déstockage de carbone ou d'éléments minéraux.

L'humification est la formation de molécules organiques complexes et stabilisées dans le sol durant la décomposition de MOS. Dans les sols bien aérés, les molécules stables sont obtenues via la déstabilisation oxydative de la part labile de la matière organique du sol entrainant ainsi la polymérisation et la recombinaison de molécules organiques complexes. Ce processus d'humification conduit à un stockage dans le sol d'azote et de phosphore sous forme organique stabilisée dans le sol.

La séquestration de carbone et d'éléments nutritifs est donc le résultat de l'équilibre entre minéralisation et immobilisation dans la biomasse (Hättenschwiler *et al.*, 2011). Cette immobilisation dans la biomasse microbienne entraine ainsi une séquestration sur le long terme car les dérivés microbiens ayant subi une déstabilisation oxydative sont plus réfractaires à la minéralisation que les dérivés végétaux de type cellulose ou même lignine. En effet, Kallenbach *et al.* (2016) ont pu montrer que la formation de résidus microbiens augmentait l'hétérogénéité chimique de la MOS, augmentant ainsi son potentiel de stabilisation physique et ses interactions avec les argiles. Cette hétérogénéité de la MOS est dépendante de l'efficience d'utilisation du carbone (CUE) de la communauté microbienne (Kallenbach *et al.*, 2016). L'humification de la MO est donc couplée également à sa minéralisation. Un déterminant de la minéralisation peut faire diminuer la minéralisation et la séquestration, augmenter les deux, ou diminuer l'un et augmenter l'autre s'il joue sur la

CUE des communautés microbiennes. Il a ainsi été montré qu'une hausse de la température augmentait la décomposition de la MOS par les microorganismes mais également la formation de matière organique dérivée de matériels microbiens (Bradford *et al.*, 2016). Une autre étude a montré qu'une hausse de température diminuerait dans un premier temps l'efficience d'utilisation microbienne du carbone issu de la matière organique récalcitrante, entrainant ainsi une perte de carbone par respiration. Par contre, à long terme cette hausse de la température entrainerait plutôt une augmentation de la CUE microbienne pour le carbone de la MOS récalcitrante, favorisant à nouveau l'incorporation dans la biomasse microbienne et ainsi la séquestration dans les sols (Frey *et al.*, 2013).

### II.5. Conclusion

La matière organique du sol (MOS) participe au maintien de la structure du sol, de sa fertilité et de la biodiversité du sol. Elle constitue également un stock de carbone organique de 1550 Gt de C. La MOS englobe la MO vivante, la MO fraiche, et la matière évoluée. Elle forme ainsi un continuum de nombreuses formes organiques allant des matériaux végétaux intacts aux acides carboxyliques issus de la litière et des produits microbiens. La composition chimique de tous ces éléments déterminerait le turnover de la MOS et la décomposition de la MOF en MO stabilisée par les microorganismes. Les propriétés physico-chimiques de ces composés organiques et de la phase minérale du sol déterminent différents types de protection de la MO dans le sol (physique, chimique et biochimique). La protection biochimique est le résultat de la décomposition microbienne principalement réalisée par des métabolismes hétérotrophes. L'humification de la MO est donc couplée à sa minéralisation sous forme de CO<sub>2</sub>. Ainsi, la compréhension et la gestion du devenir de la MO dans les sols passent également par la compréhension des déterminants de la minéralisation ou de la séquestration de la MO dans les sols.

### III. Les déterminants de la minéralisation de la MO et/ou de la séquestration

## III.1. Les différents types de déterminants

La minéralisation de la matière organique du sol est le résultat de l'action des enzymes secrétées par les décomposeurs. L'intensité de cette minéralisation est ainsi déterminée par l'influence de différents facteurs sur l'allocation des ressources dans la production d'enzymes ou la croissance microbienne et sur les populations microbiennes elles-mêmes. Ces déterminants sont de différents types, physiques, biologiques ou biochimiques et ont été classées de différentes façons dans la littérature selon leurs modes d'influences.

La minéralisation est notamment sous l'influence des facteurs qui déterminent la biomasse microbienne. Ces déterminants peuvent exercer un contrôle « top down » ou « bottom up ». Les prédateurs des microorganismes, tels que les protozoaires ou les nématodes bactérivores, exercent un contrôle « top down » sur la biomasse microbienne en agissant sur la mortalité microbienne. Ces déterminants ont ainsi un effet négatif sur la minéralisation de la MOS. La disponibilité en ressources et les conditions physico-chimiques du sol exercent quant à eux un contrôle « bottom up » sur la biomasse microbienne en agissant sur sa croissance. Ces déterminants ont ainsi un effet positif sur la minéralisation de la MOS.

Les différents facteurs influençant la minéralisation peuvent aussi être classés en déterminants abiotiques et biotiques. Les déterminants abiotiques regroupent les conditions physico-chimiques du sol influençant la minéralisation tels que les teneurs en éléments minéraux, la texture du sol, le pH, la teneur en eau du sol, les quantité et qualité de la MOS ou la composition minérale du sol. Les déterminants biotiques regroupent quant à eux les facteurs biologiques influençant la minéralisation, tels que la biomasse microbienne, la composition et la diversité des populations microbiennes, les interactions avec les autres organismes.

Les déterminants de la minéralisation peuvent enfin être classés en déterminants proximaux ou distaux. Les facteurs définis comme déterminants proximaux sont tous les facteurs ayant une influence directe sur la minéralisation ou les acteurs qui la réalisent. Parmi ces déterminants proximaux, on compte essentiellement les conditions physico-chimiques des sols, la disponibilité en ressources ou les interactions biotiques. Les facteurs définis comme déterminants distaux sont les facteurs ayant une influence indirecte sur la minéralisation ou les acteurs définis distaux sont les facteurs ayant une influence indirecte sur la minéralisation ou les acteurs via un effet sur les déterminants proximaux. Le climat (Taylor *et al.,* 2017), l'usage des terres, la teneur en CO<sub>2</sub> du sol sont typiquement des déterminants distaux de la minéralisation via leurs effets sur la teneur en MO et les conditions physico-chimiques du sol.
## III.2. Les déterminants proximaux

Parmi les déterminants proximaux influençant directement les acteurs de la minéralisation, la teneur en eau dans le sol modifie l'équilibre entre croissance et survie des microorganismes (Manzoni et al., 2012). De plus, lorsque les sols sont saturés en eau, l'anaérobiose conduit à différentes voies métaboliques. La disponibilité en nutriments dans le sol est également un déterminant proximal de la minéralisation car elle détermine fortement l'efficacité des métabolismes des microorganismes qui doivent maintenir leur ratio C:N:P (Manzoni et al., 2010, 2012; Kirkby et al., 2014). Ainsi, les besoins en éléments minéraux sont des déterminants de la séquestration ou de la perte de carbone via la respiration microbienne. Zang et al. (2016) ont montré que l'apport de fertilisants azotés dans un sol rhizosphérique prélevé sous un champ de blé réduisait fortement la minéralisation de la MOS. La forte disponibilité en azote, dans ces sols riches en rhizodépôts, aurait entrainé un changement de voie d'acquisition d'azote par les microorganismes décomposeurs. Les microorganismes seraient ainsi passés de l'extraction d'azote présent dans la MOS à l'utilisation des nutriments disponibles dans le sol. La qualité des matières organiques du sol est également un déterminant proximal de la minéralisation car la minéralisation de différents substrats requière différentes voies métaboliques. De plus, l'activité microbienne est également limitée par la disponibilité en carbone dans les substrats, qui rentre à la fois dans la biosynthèse des macromolécules et des tissus et aussi dans la fourniture d'énergie pour cette biosynthèse (Hättenschwiler et al., 2011; Manzoni et al., 2012).

La composition de la communauté microbienne a également un effet sur la dégradation des macromolécules organiques car la dégradation de la matière organique est le résultat de l'activité de nombreuses populations microbiennes et certaines enzymes sont produites par un nombre restreint de microorganismes (Waldrop *et al.*, 2000).

Les interactions biotiques entre les microorganismes et leurs prédateurs constituent également un déterminant proximal de la minéralisation (Crowther *et al.*, 2015). En effet, les prédateurs exercent un contrôle top-down sur les acteurs de la minéralisation diminuant ainsi leurs biomasses et leurs activités de minéralisation. Cependant, la prédation sélective de certaines bactéries permet également l'augmentation du turnover de la biomasse microbienne et un relargage des nutriments contenus dans les cellules bactériennes

(Bonkowski, 2004). Ce nouvel apport de nutriments favoriserait les microorganismes restant et entrainerait l'augmentation de leur activité de minéralisation.

## III.4. Les déterminants distaux : Le climat, les usages et pratiques culturales

Il existe également des déterminants, dits distaux, qui ont un effet indirect sur la minéralisation en agissant sur un ou plusieurs déterminants proximaux. Ils sont d'ailleurs souvent intégrateurs de l'effet de nombreux déterminants proximaux.

#### III.4.A. Climat

La température et la pluviométrie font partie de ces déterminants distaux car leur effet sur la minéralisation de la matière organique se fait à travers leur influence sur les acteurs de la minéralisation et sur leur environnement. De plus les effets du climat sur la minéralisation dépendent de la taille du stock de carbone dans les sols (Allison *et al.*, 2010; Crowther *et al.*, 2016).

La hausse de la température accélère les réactions enzymatiques et augmente la consommation de carbone par les microorganismes (Hagerty et al., 2014). Certains pensent que dans les sols riches en carbone, cette accélération de la décomposition dépasserait la vitesse de stockage et conduirait ainsi à une perte de carbone. Dans les sols à faible stocks de carbone, une hausse de la température n'entrainerait que de faibles pertes de carbone pouvant être compensées par la croissance végétale et la stabilisation (Allison et al., 2010; Hagerty et al., 2014; Crowther et al., 2016). La hausse de la température entrainerait également une accélération du turnover microbien probablement liée à l'augmentation de l'activité des prédateurs ou le changement de la composition de la communauté microbienne (Hagerty et al., 2014). Cependant, malgré les nombreuses études sur l'effet du réchauffement climatique sur le cycle du carbone, il n'y a pas de consensus sur l'ampleur du déstockage de carbone (Hagerty et al., 2014; Bradford et al., 2016). A court terme, la décomposition serait donc accélérée à cause d'une augmentation de l'activité enzymatique et de la biomasse des décomposeurs et peut-être également à cause de la baisse de l'efficacité d'utilisation du carbone (CUE). En effet, le coût énergétique du maintien de biomasse devrait augmenter avec la température (Allison et al., 2010; Crowther et al., 2016). Cependant, cette réponse de la décomposition est souvent transitoire. Sur le long terme, une hausse des températures entrainerait une atténuation de la respiration microbienne due à leur acclimatation thermique

(Allison *et al.*, 2010; Bradford *et al.*, 2016). Cette acclimatation thermique serait liée à trois facteurs : **(1)** un changement de structure des communautés de décomposeurs, **(2)** un changement de leur biomasse et leur physiologie, et **(3)** un changement de quantité et de qualité de la MOS (Knorr *et al.*, 2005; Hartley *et al.*, 2007; Blagodatskaya *et al.*, 2016).

La pluviométrie exerce un effet indirect sur la minéralisation de la matière organique en influençant la disponibilité en eau dans les sols et la croissance de la couverture végétale. Dans la littérature, il a été montré qu'une augmentation de l'humidité du sol entrainait une augmentation de l'émission de CO<sub>2</sub> provenant du stock de carbone labile (Wan *et al.*, 2007; Garten *et al.*, 2008). En effet, l'augmentation de la teneur en eau dans les sols permet la diffusion des substrats et de l'oxygène, favorisant ainsi l'activité microbienne (Wan *et al.*, 2007). A l'échelle globale, les effets du changement climatique sur les stocks de carbone pourraient être plus importants sur les écosystèmes soumis à des climats froids et de hautes latitudes (Bradford *et al.*, 2016; Crowther *et al.*, 2016).

## III.4.B. Usage et pratiques

L'usage des terres et les pratiques agricoles ont également un impact indirect sur la minéralisation via leurs effets sur les décomposeurs microbiens et sur leur habitat. Par exemple, il a été montré que la présence de prairies entrainait un ralentissement de la décomposition des MO via la réduction des échanges d'eau et de gaz entrainant une intensification de la formation de l'humus (Guo and Gifford, 2002). La présence de plantes de couverture dans les systèmes dits « sous couverture végétale » (SCV) entrainerait un apport supplémentaire de matière organique, notamment via les exsudats racinaires, permettant ainsi d'augmenter le stockage (Poeplau and Don, 2015). Dans les parcelles cultivées, moins de matière organique retourne dans le sol (Guo and Gifford, 2002). Le labour affecte la plupart des microorganismes et leurs fonctions de minéralisation en réduisant la diversité microbienne et en perturbant la formation de réseaux de mycélium fongique (Vukicevich *et al.*, 2016). De plus, le labour entrainerait la destruction des agrégats protégeant la MOS conduisant ainsi à une accélération de la minéralisation par rapport au stockage (Guo and Gifford, 2002).

Les monocultures intensives endommagent également les stocks de carbone alors qu'une diversité des cultures favoriserait le stockage via l'effet positif de la production d'exsudats de qualités différentes sur la diversité microbienne (Guo and Gifford, 2002; Vukicevich *et al.*,

2016). Les exsudats facilement décomposables, notamment ceux produits par les légumineuses, influenceraient la physiologie microbienne et favoriseraient les acteurs des premières étapes de la minéralisation. Ces derniers accumuleraient ainsi le carbone dans leur biomasse puis leur nécromasse constituerait un pool de matière organique complexe et récalcitrante à la minéralisation (Kallenbach *et al.*, 2015, 2016).

# III.5. Conclusion



La minéralisation et la séquestration de la matière organique dans les sols est la conséquence de ľactivité enzymatique des décomposeurs. La minéralisation s'effectue en plusieurs étapes de dégradation de la matière organique en minéraux. éléments La séquestration s'effectue par la voie de l'immobilisation dans la biomasse microbienne suivie par la voie de l'humification, c'est à

Figure 3 : Schéma conceptuel des influences des déterminants de la minéralisation

dire de la stabilisation physicochimique de sa nécromasse. La minéralisation de la matière organique du sol est sous l'influence de plusieurs facteurs déterminant l'activité et la biomasse microbienne (Fig.3). Ces déterminants peuvent être classés sous différents critères.

Dans ce travail de thèse nous nous sommes intéressés aux déterminants proximaux et distaux de la minéralisation, qu'ils soient biotiques ou abiotiques. En effet, des déterminants de la minéralisation pourraient influencer l'intensité et les processus de décomposition de la MOS observé et notamment ceux observés après l'apport de matière organique fraiche dans

les sols. Ainsi, dans ce travail de thèse, nous avons étudié l'influence des conditions physicochimique des sols, du climat et des pratiques agricoles sur les acteurs de la minéralisation.

# IV. Les décomposeurs : acteurs de la transformation de la MO dans le sol

Les microorganismes du sol englobent les archées, les bactéries et les champignons. Ils réalisent la majorité des processus enzymatiques dans les sols (Fierer, Breitbart, *et al.*, 2007; Joergensen and Wichern, 2008; Fierer *et al.*, 2009). Ils sont les principaux acteurs de la décomposition de la matière organique dans le sol. Cependant, la majorité des espèces microbiennes reste inconnue (Torsvik and Øvreås, 2002).

#### IV.1. Physionomies

Les bactéries sont des procaryotes unicellulaires qui présentent un nombre limité de formes (coques, bacilles, spirales...) et une gamme de taille généralement située entre 0,5 et 5 µm avec certaines souches pouvant mesurer jusqu'à 500 µm. Les différentes formes cellulaires peuvent influencer leurs capacités à absorber des nutriments, à se fixer aux surfaces et à échapper à la prédation. Les champignons regroupent, quant à eux, des eucaryotes unicellulaires et pluricellulaires à paroi chitineuse ou cellulosique. Les champignons pluricellulaires émettent des réseaux d'hyphes appelés mycélium permettant l'absorption des nutriments. Les hyphes fongiques ne font que quelques microns de diamètre mais peuvent mesurer plusieurs centimètres/mètres de long.

## IV.2. Métabolismes

Les microorganismes sont principalement constitués de polymères résultants de l'assemblage de monomères contenant du carbone, de l'oxygène, de l'hydrogène, de l'azote, du soufre ou du phosphore. Ils sont les principaux acteurs de la transformation biogéochimique du carbone, de l'azote, du soufre et d'autres éléments (Oren, 2010). On les qualifie parfois d'ingénieurs chimiques du sol. Les microorganismes peuvent être classés selon la nature de la source de carbone assimilée. Les autotrophes assimilent le carbone à partir du dioxyde de carbone alors que les hétérotrophes dépendent du carbone organique (Panikov, 2010). De plus, plusieurs groupes de procaryotes réalisent des réactions de production d'énergie que l'on ne retrouve pas chez les eucaryotes (Panikov, 2010). Les bactéries présentent une plus grande variété de métabolismes que les champignons. On compte, parmi les bactéries, des organismes autotrophes, photoautotrophes ou chimioautotrophes, qui

Chapitre I : Introduction générale

peuvent créer leurs molécules complexes à partir de composants inorganiques simples tels que le dioxyde de carbone, le nitrate, les ions ammonium, le sulfate et le phosphate (Panikov, 2010). Mais dans le sol, la grande majorité est toutefois hétérotrophe, utilisant la matière organique comme source de nutriments et d'énergie pour croitre. Les champignons, quant à eux, ne comptent que des organismes hétérotrophes dont le développement dépend de la présence de matière organique dans leur milieu. Les microorganismes hétérotrophes représentent ainsi les principaux acteurs de la décomposition de la matière organique (Panikov, 2010). Les nutriments de ces décomposeurs sont des monomères ou précurseurs de monomères indispensables à leur croissance (Madigan and Martinko, 2006). L'environnement fourni aux microorganismes une grande variété de substrats, mais la taille de la plupart des substrats fait que la dépolymérisation en monomères se réalise dans le milieu environnant et non dans la cellule ou l'organisme. Le carbone, composant environ 50% du poids sec d'une cellule microbienne, peut être assimilé sous forme d'acides aminés, d'acides gras, d'acides organiques, de sucres ou de composés aromatiques. Dans les sols, les micro-organismes peuvent puiser l'azote dans des molécules organiques (acides aminés, bases azotées) ou plus généralement dans des composés minéraux. Cependant, la source d'azote préférentiellement assimilé par les microorganismes est plutôt inorganique (NH4<sup>+</sup> ou NO3<sup>-</sup>). L'azote organique assimilé est transformé en ion ammonium (NH<sub>4</sub>+) pour être incorporé dans des acides aminés. Le phosphore, présent dans les sols sous forme de phosphate organique et inorganique, entre généralement dans la cellule sous forme d'ion pyrophosphate (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) pour la formation des acides nucléiques (Madigan and Martinko, 2006). La minéralisation du phosphate est donc un processus extracellulaire réalisé par des phosphatases libres ou périplasmiques.

La matière organique qui arrive au sol est composé de macromolécules complexes qui sont trop grandes pour être assimilées par les microorganismes du sol. Ainsi, les premières étapes de la décomposition de la MO sont réalisées à l'extérieur des cellules microbiennes. Pour cela, les microorganismes excrètent des enzymes extracellulaires pour dégrader les molécules organiques complexes en petites molécules assimilables. Il existe ainsi des microorganismes spécialisés dans la production des différentes enzymes permettant de dégrader la MO, telles que les cellulases, les glycosidases ou les phosphatases.

Les champignons ont la capacité d'utiliser un éventail de substrats organiques complexes beaucoup plus important que les bactéries grâce à leurs productions d'enzymes pouvant dégrader les composés ligno-cellulosiques des résidus végétaux (Panikov, 2010).

La présence d'organismes spécialistes au sein d'une communauté microbienne permet ainsi à tous les microorganismes de la communauté d'assimiler les molécules libérées dans la solution du sol par l'action des enzymes spécialisée. Les microorganismes assimilent leurs nutriments par absorption à travers leur membrane cellulaire. Une fois assimilées par les microorganismes, les petites molécules vont être utilisées pour la production de biomasse, la production d'énergie, la production d'enzymes extracellulaires, ou être minéralisées pour équilibrer leur ratio C:N ou C:P (Six *et al.*, 2006). Ainsi les microorganismes participent à la séquestration de carbone dans les sols, en l'intégrant dans leur biomasse et participent à la minéralisation du carbone en le rejetant dans l'atmosphère (Six *et al.*, 2006). Un paramètre souvent utilisé pour quantifier le partitionnement du carbone (C) entre la production de biomasse et la respiration est l'efficience d'utilisation du carbone (CUE pour « carbone use efficiency »). La CUE est définie comme la quantité de C utilisée pour la production de nouvelle



Figure 4: Effets du changement de l'efficacité d'utilisation du C (CUE) sur la séquestration du C dans les sols (d'après Manzoni et al., 2012). Les flèches en bleu désignent un effet positif et les flèches en rouge désignent un effet négatif.

biomasse en fonction de la quantité de C consommé (Six et al., 2006; Manzoni et al., 2012). De fortes valeurs de CUE indiquent une production efficace de biomasse avec relativement peu de pertes par la respiration. Ce paramètre est notamment sous le contrôle de facteurs environnementaux tels que la température, l'humidité du sol, la qualité de la matière organique du sol ou la limitation du sol en nutriments (Fig. 4; Manzoni et al., 2012). La composition de la communauté microbienne contrôle également la CUE, avec des CUE plus élevées dans une communauté dominée par les champignons. La CUE est un paramètre particulièrement important dans la problématique de séquestration du carbone puisque l'entrée d'un carbone végétal dans la biomasse microbienne est le point de départ de sa stabilisation biochimique et *in fine* sa séquestration.

## IV.3. Répartition spatiale

Dans un gramme de sol, on peut compter entre 107 et 1012 cellules microbiennes (Watt et al., 2006). Fierer et al. (2009) ont montré que la biomasse microbienne dans les sols varie entre 2 et 806 gC.m<sup>-2</sup> en fonction des biomes étudiés. Les sols de forêts boréales et de déserts abriteraient la plus faible biomasse microbienne par unité de surface, alors que les sols de forêts tropicales et tempérées abriteraient la plus forte biomasse microbienne par unité de surface. Cependant, le sol étant un milieu hétérogène, la localisation des microorganismes est plus importante dans des micro-habitats où les microorganismes sont regroupés en colonies. Ainsi, malgré l'espace disponible dans les sols, l'espace occupé par les microorganismes ne représenterait que 5% de l'espace disponible dans les sols (Nannipieri et al., 2003). Il existe ainsi dans le sol des « hotspots » de diversité et d'activité microbienne autour des sources de MO labile (Kuzyakov and Blagodatskaya, 2015). Les « hotspots » sont définis comme de petits volumes présentant des processus plus rapides grâce à la levée des limitations de l'activité microbiennes et présentant des interactions plus nombreuses entre les différents pools de C du sol. Les microorganismes actifs sont 2 à 20 fois plus nombreux dans les « hotspots » que dans le « bulk soil » (Kuzyakov and Blagodatskaya, 2015). Cette activité accrue peut durer de quelques heures à quelques semaines en fonction des contraintes environnementales. Les principaux « hotspots » du sol sont la rhizosphère, en relation avec les exsudats racinaires et rhizodépots labiles, la détritusphère en raison de l'apport de polymères organiques (résidus de cultures, litière de forêt...), les biopores et les déjections animales grâce à l'apport de matières organiques passées par le tractus intestinal des ingénieurs du sol (vers de terre, larves de coléoptères, termites...) et les surfaces des agrégats (Kuzyakov and Blagodatskaya, 2015).

# IV.4. Diversité génétique

La caractérisation de la diversité microbienne du sol est un domaine scientifique assez jeune (Nannipieri *et al.*, 2003). Les premières méthodes d'études des microorganismes du sol étaient basées sur l'étude de cultures pures isolées du sol sans prendre en compte les Chapitre I : Introduction générale

interactions entre microorganismes et avec leurs habitats (Maron et al., 2011). Ainsi, la faible diversité des milieux de cultures, par rapport aux conditions rencontrées dans l'environnement, limitaient le nombre de microorganismes pouvant être cultivés hors de leurs milieux naturels (Bridge and Spooner, 2001; Hill et al., 2000). En effet, nos connaissances actuelles montrent que moins de 1% des microorganismes du sol sont cultivables en laboratoire (Pham and Kim, 2012). Le développement, dès le début des années 1990, d'analyses moléculaires des acides nucléiques extraits de sols a permis d'avoir accès aux génomes microbiens et de caractériser la diversité bactérienne et fongique (Ward et al., 1990; Simon et al., 1992; Stackebrandt et al., 1993; Borneman et al., 1996; Fierer and Jackson, 2006). La diversité bactérienne du sol varie en fonction des conditions édaphiques des écosystèmes étudiés (Fierer and Jackson, 2006; Fierer, Bradford, et al., 2007; Nemergut et al., 2016). Il a été démontré que le pH du sol était le meilleur prédicteur de la diversité des communautés bactériennes du sol à l'échelle de l'écosystème (Fierer and Jackson, 2006). Cependant, des études de la composition des communautés bactériennes de sols soumis à différentes couvertures végétales ont montré une ubiquité des principaux phyla bactériens détectés (Fierer et al., 2007, 2009; Pascault et al, 2013; (Lienhard et al., 2013; Tardy et al., 2015).

Malgré l'importance des champignons dans les processus écologiques des sols, la diversité de leurs communautés est moins étudiée que celle des communautés bactériennes (Anderson and Cairney, 2004; Peay *et al.*, 2008). Les champignons forment un groupe extrêmement diversifié mais les connaissances actuelles sur la diversité fongique sont principalement basées sur l'observation d'organes de fructification présents dans le sol et de la culture d'isolats (Bridge and Spooner, 2001). Cependant, Fierer *et al.* (2007) ont montré que la richesse fongique était équivalente si ce n'est supérieur à la richesse bactérienne dans les sols de désert, de prairie et de forêt tropicale.

## IV.5. phylogénie

Les microorganismes, comme tous les êtres vivants, sont classés en différents taxa suivant la classification phylogénétique. Dans ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés aux niveaux phylum et familles de la classification phylogénétique des bactéries et champignons. Le règne des bactéries est constitué de plus d'une dizaine de phyla bactériens décrits (Fig.5). Les phyla dominants dans les sols sont les Proteobacteria, les Acidobacteria et les Actinobacteria. Les Proteobacteria constituent le plus grand phylum bactérien avec une

grande de diversité morphologique, physiologique et métabolique ; plusieurs classes ont été décrites (Stackebrandt et al., 1988; Garrity et al., 2005; Spain et al., 2009). Parmi ces classes, on compte les Alphaproteobacteria se développant plutôt dans des sols pauvres en nutriments. Les Alphaproteobacteria comprennent notamment l'ordre des Rhizobiales, symbiotes des racines végétales capable de fixer l'azote atmosphérique (Garrity et al., 2005). Betaproteobacteria sont constituées de bactéries fortement diversifiées Les métaboliquement et regroupent des bactéries chimiolithotrophes, photoautotrophes et hétérotrophes. Les Deltaproteobacteria comprennent des bactéries prédatrices d'autres bactéries et des bactéries impliquées dans le cycle du soufre. Les Gammaproteobacteria forment la classe des Proteobacteria la plus étudiée notamment dans le domaine médical, car regroupant de nombreux pathogènes humains. Les Acidobacteria, autre phylum bactérien majeur dans les sol, regroupent des bactéries acidophiles qui, malgré leurs présences dans de nombreuses régions et leur forte diversité, sont peu étudiées car difficilement cultivables (Kuske et al., 1997; Quaiser et al., 2003). Les Actinobacteria, regroupent des bactéries qui ont longtemps été confondues avec des champignons à cause de leur capacité à émettre des filaments et à décomposer la matière organique morte arrivant au sol (STACKEBRANDT et al., 1997). Les Actinobacteria comprennent également, comme les Alphaproteobacteria, des espèces vivant en symbiose avec les racines de végétaux pour fixer l'azote atmosphérique (symbiose actinorhizienne).

Les champignons ont longtemps été considérés comme des végétaux mais constituent en fait un règne monophylétique différencié des végétaux et des algues. La classification phylogénétique des champignons est en continuelle évolution grâce à l'utilisation des outils moléculaires (Hibbett *et al.*, 2007) mais nécessite toujours une homogénéisation des différents taxa. Selon la classification de Hibett *et al.* (2007), le règne des champignons est constitué de 7 phyla, dont 5 sont retrouvés dans les sols (Thorn and Lynch, 2007) : Ascomycota, Basidiomycota, Glomeromycota, Zygomycota et Chytridiomycota. Les phyla Basidiomycota et Ascomycota sont les plus représentés et les plus diversifiés dans les sols. Viennent ensuite les phyla Glomeromycota et Zygomicota. Le phylum Chytridiomycota est le moins représenté dans les sols (Fig. 6).



Figure 5 : Les divisions phylogénétiques majeures au sein des bactéries (extrait de Killham and Prosser, 2007). Les segments en blanc représentent les groupes avec des représentants cultivés. Les segments en noir représentent les séquences obtenues par l'amplification des gènes codant pour l'ARN 16S extraits des sols.

Le phylum Ascomycota est le phylum fongique présentant la plus grande diversité spécifique et la plus grande diversité de modes de nutrition. Il comprend des champignons parasites de plantes et d'animaux, des symbiotes d'algues (lichens) ou de végétaux



Figure 6 : Groupes phylogénétiques majeurs des champignons (extrait de Thorn & Lynch dans Soil Microbiology and Biochemistry

(ectomycorrhizes) et des saprophytes. Les ascomycètes sont caractérisés par la formation d'asques contenant les spores de reproduction et comprennent la majorité des champignons connus (Thorn and Lynch, 2007 ; Kirk *et al.*, 2008). Le phylum Basidiomycota présente la deuxième plus grande diversité spécifique et une grande diversité de modes de nutrition. Les basidiomycètes identifiés sont principalement des champignons saprophytiques décomposant les feuilles et le bois et comprennent d'importants pathogènes des cultures et parasites d'arbres. Les basidiomycètes regroupent également de nombreux champignons formant des ectomycorrhizes avec des arbres. Il existe également des basidiomycètes nématodivores, ou cultivés par des fourmis champignonnistes. Ce phylum est caractérisé par des cellules spécialisées, les basides, qui produisent les spores de reproduction et par la production d'organes de fructification macroscopiques ((Thorn and Lynch, 2007 ; Kirk *et al.*, 2008).

Le phylum Glomeromycota est composé de champignons mycorhiziens qui ont longtemps été classés parmi les Zygomycètes. Les gloméromycètes ont la capacité de faire des endomycorhizes avec la majorité des plantes. Ils émettent de larges hyphes multinucléées qui s'étendent des racines des plantes au sol améliorant ainsi l'absorption d'eau et de nutriments, notamment le phosphate (Thorn and Lynch, 2007 ; Kirk *et al.*, 2008).

Le phylum Zygomycota est constitué de deux classes, les Trichomycètes et les Zygomycètes. Les Trichomycètes sont des endosymbiotes obligatoire d'arthropodes et les Zygomycètes regroupent des saprophytes et quelques parasites d'invertébrés. De plus, la plupart des Zygomycètes saprophytes identifiés ont été caractérisés par leur dépendance aux produits de la dégradation de la ligno-cellulose effectuée par les ascomycètes et les basidiomycètes (Thorn and Lynch, 2007 ; Kirk *et al.*, 2008).

Enfin, le phylum Chytridiomycota est le phylum fongique le plus petit mais le plus proche de l'ancêtre commun aux champignons et aux animaux. Il regroupe des pathogènes de végétaux, des parasites de nématodes, des parasites d'algues et des champignons saprophytiques. Les champignons de ce phylum possèdent des zoospores mobiles grâce à un flagelle (Thorn and Lynch, 2007 ; Kirk *et al.*, 2008).

Ces dernières années, le développement de techniques de séquençage à haut débit a permis d'extraire des milliers de génomes microbiens du sol. Le pyroséquençage a ainsi permis d'améliorer la caractérisation des communautés microbiennes du sol et la compréhension de leur distribution en fonction des conditions environnementales et des perturbations (Fierer, Bradford, *et al.*, 2007; Cardenas and Tiedje, 2008; Rousk *et al.*, 2010; Maron *et al.*, 2011; Kuramae *et al.*, 2012; Ding *et al.*, 2013). Cependant, les analyses moléculaires des

communautés microbiennes ne sont pas dépourvues de biais. Dans les banques de séquences d'ADN 16S extraits de l'environnement, 9 des 52 phyla bactériens représentent plus de 90% des séquences retrouvées (Janssen, 2006). Les banques de séquences d'ADN 18S sont, quant à elles, moins renseignées que celles des séquences bactériennes. De plus, il existe différentes banques de séquences présentant ainsi des différences tant dans la quantité de séquences identifiées que dans la classification de certaines séquences. Ces méthodes sont souvent basées sur l'amplification d'un gène que possèdent tous les organismes tels que le gène codant pour la petite sous-unité du ribosome (16S pour les procaryotes, 18S pour les eucaryotes). Or il manque des séquences génériques permettant d'élaborer des amorces spécifiques d'un règne entier (bactérien ou fongique). Par exemple on sait que les amorces utilisées aujourd'hui pour amplifier le gène de l'ARN 16S du règne bactérien ne ciblent en fait que 60% des séquences bactériennes. Enfin, ces analyses moléculaires ne peuvent pas se passer de méthodes de culture pour comprendre le métabolisme, le fonctionnement et le rôle des microorganismes non cultivés (Anderson and Cairney, 2004; O'Brien *et al.*, 2005 ; Cardenas and Tiedje, 2008; Maron *et al.*, 2011; Pham and Kim, 2012).

## IV.6. Vers une classification plus fonctionnelle des microorganismes

Il est encore impossible d'interpréter convenablement l'implication de la diversité microbienne étudiée dans les différentes fonctions des écosystèmes échantillonnés. Ainsi, un des challenges actuels de l'écologie microbienne est de pouvoir comprendre la relation entre la composition des communautés microbiennes et les fonctions écologiques assurées par le sol. Un premier projet initié en 2007, a permis de caractériser, à l'échelle de la France, la densité et la diversité des communautés microbienne au sein d'un réseau de mesure de la qualité des sols (Dequiedt *et al.*, 2009, 2011 ; Maron *et al.*, 2011). Ce programme a montré que la distribution spatiale des communautés bactériennes suivait les profils biogéographiques et la diversité des paysages. Il devient également nécessaire de développer des méthodes d'étude de la diversité microbienne permettant de relier les organismes à une fonction. L'utilisation de la SIP (Stable Isotope Probing) représente un moyen de cibler les taxa contribuant à la décomposition d'un substrat organique fortement enrichi en isotopes stables du carbone sans passer par le biais des méthodes de culture (Krause *et al.*, 2014). Bernard et al. (2007) ont ainsi mis en évidence l'implication d'une succession de populations bactériennes dans la décomposition d'une paille de blé, puis Pascault *et al.* (2013) ont comparé une

succession similaire entre blé et luzerne. Ainsi, associer approches moléculaires et isotopiques permettrait d'identifier les capacités fonctionnelles des microorganismes et de les associer à des fonctions réalisées.

Il est aussi possible de classer les différents phyla selon leurs stratégies de vie. Les rstratèges sont adaptés pour maximiser leur taux de croissance dans des milieux riches en nutriments. Les K-stratèges sont de meilleurs compétiteurs lorsque l'environnement est proche de sa capacité de charge et sont adaptés pour survivre lorsque les ressources sont limitées. Cependant, la théorie des r- et K-stratèges est une simplification extrême des stratégies de vie. C'est un continuum et non deux classes dans lesquelles on pourrait facilement classer les différentes espèces. De plus, de nombreuses espèces ont un métabolisme versatile, leur permettant d'adapter leur stratégie de vie en fonction des conditions environnementales.

Fierer *et al.* (2007) ont montré que certains des phyla bactériens dominants dans le sol peuvent être divisés dans deux catégories écologiques selon leur statut trophique, les copiotrophes et oligotrophes. Les copiotrophes utilisent préférentiellement les pools de C organique labiles et présentent de fort taux de croissance quand les ressources sont abondantes. Parmi ces bactéries copiotrophes, on retrouve le phylum Bacteroidetes et les classes Beta- et Gamma-proteobacteria. Les oligotrophes, quant à eux, présentent de faible taux de croissance et une meilleure affinité à certains substrats qui leur permettent de dominer la compétition contre les copiotrophes, on retrouve les bactéries du phylum Acidobacteria. Cependant, certaines bactéries, tels que les bactéries des phyla Firmicutes et Actinobacteria et de la classe Alphaproteobacteria, auraient des statuts trophiques intermédiaires et ne pourraient pas être classées dans une de ces deux catégories (Fierer *et al.*, 2007).

Les microorganismes du sol peuvent également être classés en guilde écologique en corrélant les caractéristiques physiologiques des populations microbiennes avec la qualité des substrats pour lesquelles elles entre en compétitions. Pour cela, Moorhead et Sinsabaugh (2006) ont ainsi proposé de classer les microorganismes en 3 guildes : les opportunistes, les décomposeurs et les mineurs. La guilde des opportunistes regroupe les populations à croissance rapide et qui consomment les métabolites intermédiaires et les polymères solubles

facilement décomposables. Cette guilde dominerait les communautés microbiennes durant les premiers stades de la décomposition. A mesure que le substrat disponible diminue, cette guilde est évincée. La guilde des décomposeurs regroupe les microorganismes capables de dégrader la cellulose et la lignocellulose, constituant la majorité de la masse végétale. Compte tenu de la composition de la paroi des cellules végétales, les décomposeurs acquièrent et retiennent efficacement l'azote et le phosphore. Certains champignons et actinomycètes seraient de premier plan dans cette guilde car ils ont la capacité d'accéder aux ressources dispersées dans le sol grâce à leurs réseaux d'hyphes. La guilde des mineurs regroupe les microorganismes qui dégradent la MO humifiée. Ils utilisent des enzymes pouvant casser les liaisons des cycles aromatiques et des chaines hydrocarbonées. L'action de ces enzymes leur permet d'accéder aux glycosides, peptides et lipides protégés par la structure complexe et irrégulière de la MO. Ces organismes ont une croissance lente car la MO humifiée fournit peu de substrats comparativement aux coûts énergétiques de la production des enzymes. Leur avantage par rapport aux deux autres guildes est leurs capacités à métaboliser les composés phénols et à prélever les nutriments d'un pool récalcitrant de matière organique.

#### IV.7. Conclusion

Les décomposeurs de la matière organique dans les sols sont principalement les bactéries et champignons hétérotrophes. Ceux-ci présentent une diversité de métabolismes leur fournissant les capacités d'exploiter les différentes sources de nutriments fournies par la MO. Cependant, compte tenu de leur physiologie, les nutriments assimilables par les décomposeurs sont des monomères ou précurseurs de monomères. Pour cela, la production d'enzymes extracellulaires est nécessaire pour décomposer les molécules organiques. Cette production étant couteuse en énergie, les microorganismes se sont spécialisés dans la production des différentes enzymes. Ainsi, c'est la présence d'organismes spécialistes au sein d'une communauté microbienne qui permet à la communauté d'assimiler les molécules libérées dans la solution du sol. Les communautés microbiennes du sol présentent une grande diversité phylogénétique qui, ces dernières années, a pu être mise en évidence grâce à des techniques de séquençage (à haut débit). Cependant cette diversité phylogénétique ne permet pas, à elle seule, d'identifier le rôle de la diversité microbienne dans le fonctionnement des sols. Pour cela, elle doit être associée aux capacités fonctionnelles des microorganismes. Ainsi, plusieurs classifications fonctionnelles ont été proposées pour déterminer le rôle de la diversité microbienne dans les fonctions du sol.

Dans ce travail de thèse, nous nous sommes préférentiellement appuyés sur la classification en trois guildes proposée par Moorhead et Sinsabaugh (2006) pour expliquer les processus de décomposition des MO et notamment les processus de génération du PE.

## V. Le PE : mécanismes générateurs, conséquences et hypothèses

## V.1. Un phénomène intriguant : le « Priming Effect »

Il a été observé que l'apport de substances organiques au sol provoquait des effets secondaires comme l'augmentation de l'émission de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), d'ammonium (NH<sub>4</sub>) ou de nitrate (NO<sub>3</sub>) dérivés de la matière organique native du sol (MOS). Löhnis (1926) a été le premier à étudier ces effets secondaires lors d'une étude de la décomposition, dans le sol, d'engrais vert issu de résidus de légumineuses. Cette étude a montré que l'apport de cette matière organique fraîche (MOF) entrainait une intensification de la minéralisation de l'azote (N) issu de la matière organique (MO) humifiée du sol.

Après une perte d'intérêt pour ce phénomène écologique, de nombreuses études ont été relancées dans les années 40 visant à mettre en évidence l'effet de différents paramètres sur cette sur-minéralisation de la MOS. Broadbent et Norman (1947) ont notamment observé, grâce à l'apport au sol de résidus de plantes marquées au <sup>13</sup>C, une émission de C-CO<sub>2</sub> issu du sol 4 à 11 fois plus importante que la quantité de carbone (C) apportée. Ce n'est qu'en 1953 que Bingeman *et al.* ont introduit le terme de Priming effect (PE). Durant leur étude, les auteurs ont suivi, en milieu contrôlé, la respiration du sol après apport de glucose, de fraction insoluble de luzerne et de luzerne entière marquée au <sup>14</sup>C. Ils ont ainsi observé que ces substrats stimulaient une intensification de la minéralisation de la MOS à des niveaux différents. Ce terme de PE désigne ainsi la stimulation du changement du turnover de la MOS via l'apport au sol d'un substrat plus facilement décomposable que la MO native.

Dans les études qui ont suivies, plusieurs définitions du PE ont été proposées selon que la minéralisation suivie était celle du C ou celle du N (Jenkinson *et al.*, 1985 ; Dalenberg and Jager, 1989). La définition a ainsi évolué et le PE a été finalement défini comme un changement des processus naturels de minéralisation de la MO après une stimulation réalisée via l'apport d'une source d'énergie facilement décomposable, par les microorganismes du sol.

Le terme de « changement » a donc remplacé celui de « stimulation », dans la définition du PE, à partir du moment où une réduction de la minéralisation de la MOS suite à un apport en MOF a également été observée, générant donc un PE négatif (Kuzyakov *et al.*, 2000). Le PE positif peut ainsi entrainer un déstockage de nutriments dérivés de la MOS récalcitrante, les rendant ainsi disponibles dans la solution du sol (fig. 7a). Le PE négatif, quant à lui, peut entrainer une immobilisation, dans la fraction vivante de la MOS, des éléments dérivés de la MOF plus labile, les rendant temporairement indisponibles (fig. 7b). Plus tard, différentes études ont mis en évidence des PE « apparents ». Contrairement au PE réel qui est une accélération ou réduction de la minéralisation de la MOS morte, le PE apparent est une émission supplémentaire de CO2 issue de l'accélération du turnover de la biomasse



Figure 7 : Schéma du priming effect (d'après Kuzyakov, 2000) : (a) Priming effet positif : accélération de la décomposition de la MOS après l'apport de subtrat ; (b) Prinming effect négatif : ralentissement de la décomposition de la MOS après l'apport de substrat.

microbienne (Blagodatskaya *et al.*, 2007; Blagodatsky *et al.*, 2010), d'une décomposition incomplète de la MOF ou d'une libération des nutriments fixés sur la phase minérale du sol (Kuzyakov *et al.*, 2000). Dans une cinétique de génération de PE après un apport de MOF, le PE apparent a souvent lieu dans les heures qui suivent l'apport de substrat frais.

Dans ce travail de thèse, nous nous concentrerons sur le PE réel, relié au carbone, et principalement positif.

Le PE a été observé à l'échelle de la rhizosphère où les exsudats racinaires entrainaient localement une accélération de la minéralisation de la MOS (Kuzyakov, 2002; Blagodatskaya and Kuzyakov, 2008; Nottingham *et al.*, 2009), mais également à l'échelle de la drilosphère, où le mucus dans le tractus digestif des vers de terre permettait une activation de la minéralisation de la MOS (Bernard *et al.*, 2012; Bityutskii *et al.*, 2012) ou à celle de la résidusphère (Fontaine *et al.*, 2004, 2007, Bernard *et al.*, 2007, 2009). Le PE a également été

observé dans les milieux aquatiques (Guenet *et al.*, 2010). Tous ces résultats indiqueraient que le PE est un phénomène déterminant dans les différents cycles biogéochimiques au sein de la biosphère.

Le PE peut entrainer un déstockage de CO<sub>2</sub>, de NH<sub>4</sub> ou de NO<sub>3</sub> ou une immobilisation de la MO via la voie de l'humification de la MOF. Cependant, même si le PE semble être un phénomène largement répandu, seul quelques déterminants récurrents ont pu être identifiés (Kuzyakov *et al.*, 2000 ; Kuzyakov, 2010):

- 1. L'intensité des PE observés dans les sols riches est plus importante que dans les sols pauvres. Il dépend donc de la taille du compartiment organique du sol ;
- LE PE réel n'a jamais été observé dans des conditions stériles. Il est donc le résultat de l'activité des microorganismes vivants (et non un artéfact de l'activité résiduelle des enzymes abiotiques);
- 3. L'intensité du PE augmente avec la quantité de substrat frais apporté.

A l'inverse, de nombreuses études ont soulevé des observations contradictoires. La revue faite par Kuzyakov en 2000 a recensé des observations de PE positifs après l'apport de substances organiques facilement décomposables mais aussi des cas de PE négatif après l'apport de carbone facilement décomposable ou de matière organique avec un C:N inférieur à 16. Guenet *et al.* (2010) ont également observé, dans deux sols sans végétation et prélevé à Versailles, un PE négatif après l'apport de cellulose marquée au <sup>13</sup>C. Or en 2012, Guenet *et al.* avaient observé, dans ces mêmes sols, un PE positif après l'apport de paille ou cellulose marquée au <sup>13</sup>C. Paterson et Sim (2013) ont, quant à eux, observé des réponses spécifiques au type de sol après l'apport de glucose marqué dans 4 sols contrastés.

Ainsi, la diversité des effets observés n'a pas permis jusqu'à présent de déterminer un mécanisme de PE commun à tous les cas étudiés et régi par la (ou les) même(s) théorie(s) (Sullivan and Hart, 2013).

## V.2. Mécanismes générateurs

En 2003, une synthèse de la littérature sur les travaux ayant mis en évidence la génération d'un PE, a permis à Fontaine et ses collègues de proposer deux mécanismes différents à l'origine du phénomène. Ces deux mécanismes se basent sur une interaction entre deux groupes fonctionnels de microorganismes, les stratèges r et les stratèges K, qui décomposent respectivement la MOF et la MOS (Fig. 8).



Figure 8 : Mécanismes potentiels de génération du priming effect (d'après Fontaine et al. 2003). Mécanisme 1 : des enzymes extracellulaires produites par des microorganismes r-stratèges afin de décomposer la MOF aurait également la capacité de dégrader la MOF. Mécanisme 2 : une proportion de la MOF serait utilisée par des microorganismes K-stratèges comme source d'énergie pour leur croissance. Cela augmenterait la population de K-stratèges et ainsi leurs productions d'enzymes décomposant la MOS.

Mécanisme 1: les enzymes extracellulaires produites par les r-stratèges pour décomposer la MOF apportée au sol peuvent décomposer une partie de la fraction polymérisée de la MO native du sol.

Mécanisme 2 : après l'épuisement de la fraction labile de la MOF par les r-stratèges et le déclin de leur activité, les K-stratèges, continuellement actifs, minéralisent la part polymérisée de la MOF. Cette MOF leur apporte l'énergie nécessaire pour décomposer la MOS beaucoup plus réfractaire et ainsi aller chercher les nutriments N et P nécessaires à leur synthèse et leur activité.

En 2014, ces deux mécanismes ont été

revisités par Chen *et al.* en les situant par rapport à la teneur en nutriments du sol, levant ainsi un voile sur une des raisons pour lesquelles le PE a longtemps été incompris. En effet, quand certains travaux notaient une augmentation de l'intensité du PE avec la teneur en nutriments du sol (Blagodatsky *et al.*, 1998; Blagodatskaya *et al.*, 2009; Bengtson *et al.*, 2012), d'autres présentaient des résultats totalement contradictoires (Kuzyakov, 2002; Fontaine *et al.*, 2004, 2011), rendant ainsi très difficiles les interprétations sous l'hypothèse d'un mécanisme de génération unique. Dans leur étude, Blagodatsky *et al.* (1998) ont observé, dans un Luvisol carencé en azote, un PE positif plus intense après l'apport couplé de glucose et d'ammonium. Blagodatskaya *et al.* (2009) ont également observé un PE positif induit par l'apport de paille de blé plus important après avoir apporté de l'ammonium. Bengston *et al.* (2012) ont conclu de leurs expérimentations en mésocosmes que les exsudats racinaires de plantes entrainaient un PE positif quand la disponibilité en azote minéral permettait de lever la compétition pour l'azote entre les plantes et les microorganismes. A l'opposé, dans sa revue des mécanismes de priming effect dans la rhizosphère, Kuzyakov (2002) a rassemblé plusieurs études montrant que l'apport d'azote réduisait l'intensité du PE rhizosphérique. Fontaine *et al.* (2004) explique cela par le fait que la présence en abondance de nutriments dans les sols favorise les microorganismes dégradant spécifiquement la MOF. En effet, une carence en nutriments peut sélectionner des populations microbiennes capables de dégrader la MOS stabilisée pour en extraire des nutriments (Fontaine *et al.* 2011).Dans leur étude, Chen *et al.* (2014) ont donc montré que le PE généré dans ces deux groupes d'études était lié à deux mécanismes différents contrôlés de façon inverse par la teneur en nutriments. Ils les ont nommés respectivement « **théorie stœchiométrique** » et « **théorie du nutrient mining** » (Fig. 9).



Figure 9 : Lien conceptuel entre théorie du "N mining" et théorie stoechiométrique via les effets interactifs de la disponibilité de C et N sur le PE. Les flèches pleines représentent les flux contrôlés par les microorganismes K-stratèges et r-stratèges. Les flèches en pointillés montrent les actions des enzymes extracellulaires.

## V.2.A. Théorie stæchiométrique

La théorie stœchiométrique a donc été proposée pour expliquer le mécanisme 1 du PE proposé par Fontaine *et al.* (2003). Cette théorie implique que la composition de la communauté microbienne est contrainte par l'équilibre entre la stœchiométrie des ressources nutritives et celle des cellules microbiennes (Cleveland and Liptzin, 2007; Allen and Gillooly, 2009). Comme décrit précédemment, après l'apport de MOF, les r-stratèges, à croissance rapide, utilisent le C facilement assimilable et les nutriments de la solution du sol pour produire leur biomasse ainsi que des enzymes extracellulaires décomposant la fraction polymérisée de la MOF. Ces enzymes pourraient également affecter la MOS accélérant ainsi sa décomposition. A l'épuisement des nutriments, ces populations stoppent leur activité et se

mettent en dormance. Donc plus la solution du sol est riche en nutriments, plus l'activité des r-stratèges sera intense et prolongée, ainsi que le PE qui en résulte.

## V.2.B. Théorie du « nutrient mining » microbien

L'hypothèse du « nutrient mining » microbien implique que les stratèges K utilisent l'énergie du C contenu dans la MOF pour décomposer la MOS plus récalcitrante mais plus riche en nutriments (Moorhead and Sinsabaugh, 2006). Ainsi, ces microorganismes extraient les nutriments présents dans la MOS, pour les fixer dans leurs biomasses, accélérant sa décomposition et sa minéralisation. Ce processus est donc du cométabolisme. La décomposition de la MOS étant un processus couteux en énergie, si les stratèges K ont accès à une source de nutriments plus facilement accessible, ce processus n'aura pas lieu. On pourra plutôt obtenir un PE négatif. En effet, les K-stratèges qui décomposaient la MOS, vont changer de substrat et préférer la MOF. En conséquence, à l'inverse du processus précédent, plus la solution du sol sera carencée en nutriments, plus ce processus sera favorisé. Cette théorie a été déjà démontrée par Chen *et al.* (2014) pour l'azote mais en revanche son application au phosphore est encore débattue (Dijkstra *et al.*, 2013; Sullivan and Hart, 2013; Nottingham *et al.*, 2015).

#### V.3. Conséquences sur la séquestration du carbone et le recyclage des nutriments

Fontaine et Barot (2005) ont suggéré que la MOS du sol constitue une banque de nutriments pour les plantes. Les apports de MOF, selon leurs qualités et en fonction de la richesse de la solution du sol en nutriments N et P, pourraient soit alimenter cette banque via le processus d'humification, soit remobiliser une partie de ces nutriments via le PE. Lorsque la disponibilité en nutriments est faible, le PE serait positif et accompagné d'un déstockage de nutriments minéraux et d'une diminution du stock de C de la MOS. A l'opposé, lorsque la disponibilité en nutriments est élevée, le PE serait négatif et accompagné par une immobilisation des nutriments disponibles dans la MOS, par les microorganismes (Zang *et al.*, 2016). Ce mécanisme de banque de nutriments a été confirmé par Fontaine *et al.* (2011) lors d'une étude sur le PE dans des sols de prairies. Ils ont ainsi observé que la communauté microbienne stimulée par l'apport de résidus minéralisait un pool humifié du C du sol de surface. Ce PE diminuait quand la disponibilité en azote augmentait. De plus, ils ont observé

qu'il existait, en profondeur, un pool de C moins affecté par le PE mais dont le stock n'était pas nécessairement augmenté via l'apport de C organique.

Les effets de la disponibilité en azote ont été de nombreuse fois étudiés (Blagodatsky and Richter, 1998; Kuzyakov et al., 2000; Fontaine et al., 2004, 2011; Blagodatskaya et al., 2009; Cheng, 2009; Dijkstra et al., 2009; Kuzyakov, 2010; Bengtson et al., 2012; Chen et al., 2014) mais très peu d'études se sont intéressées aux conséquences de la disponibilité en phosphore (Nottingham et al., 2012, 2015; Dijkstra et al., 2013; Sullivan and Hart, 2013; Jing et al., 2017). Les différentes études s'accordent sur le point que le PE via « N mining » est plus important que le PE via « P mining ». De plus, les résultats des différentes études suggèrent que les liens étroits entre cycles de l'azote et du carbone régulent l'intensité du PE. Nottingham et al. (2012) ont montré que dans les sols tropicaux, la disponibilité en nutriments n'est pas la première contrainte du PE. En effet, ils ont observé que le PE n'était pas linéairement corrélé à la fertilité des sols et que, dans le sol le moins fertile et avec le moins de MOS, le PE était le moins intense. Ainsi, ils ont émis l'hypothèse que, dans les sols tropicaux, le PE était d'abord contraint par la teneur en C organique puis son intensité était déterminée par les carences en nutriments si le C org était suffisamment abondant. Nottingham et al. (2015) ont observé, sur les mêmes sols, que la disponibilité en phosphore était le premier déterminant de la minéralisation de la MOF apportée et que la disponibilité en nutriments, notamment en azote, le premier déterminant du PE. Les auteurs expliquent notamment ce résultat par le fait que, dans les sols étudiés, les pools organiques et inorganique du phosphore étaient importants. Dijkstra et al. (2013) ont émis plusieurs hypothèses quant aux faibles observations de PE dans les sols limités en phosphore. Le phosphore organique (P org) est principalement retrouvé dans les sols sous forme de monoester ou de diester et le P en est libéré par hydrolyses des liaisons sans émissions de CO<sub>2</sub> plutôt que par oxydation avec émission de CO<sub>2</sub>. De plus, dans les sols limités en P disponible, l'énergie d'une MOF apportée pourrait être préférentiellement utilisée pour mobiliser le P provenant du pool inorganique au détriment de la minéralisation de la MOS. Il serait pourtant intéressant de compléter les connaissances sur les liens entre PE et phosphore pour savoir si dans les sols fortement carencés comme les sols tropicaux, le phosphore de la MOS humifiée pourrait être remobilisé pour les plantes via un PE par « nutrient mining ».

### V.4. Hypothèses de travail

Les différentes études du priming effect nous a permis de poser nos hypothèses de travail.

## V.4.A. PE stæchiométrique vs PE for nutrient mining = stockage vs déstockage

Si l'on se réfère aux travaux de Chen et al. (2014), une forte disponibilité en nutriments dans le sol peut générer un PE positif par la théorie stœchiométrique. Les enzymes en cause dans ce PE étaient celles libérées par les organismes consommant la MOF (de type plutôt dépolymérases), il est fort probable que la MOS indirectement impactée ait une structure proche. Cette MOS serait donc une MOS jeune, ayant encore une forte signature végétale, et un C:N très en faveur du C. Fontaine et Barot (2005) ont signalé que le PE résultant du « nutrient mining » serait un processus permettant de remettre à disposition les nutriments emprisonnés dans la MOS récalcitrante. Cette remise à disposition est réalisée via la biomasse des K-stratèges, pool plus accessible. Par contre, contrairement aux hypothèses de Fontaine et Barot (2005) décrite précédemment, un PE négatif en absence d'apport en nutriments, peut également traduire une recharge énergétique des K-stratèges, nécessaire à la génération de PE par « nutrient mining ». A l'inverse, Le PE par « nutrient mining » serait, comme signalé par Fontaine et Barot (2005), un processus permettant de remettre à disposition les nutriments emprisonnés dans la MOS récalcitrante, via la biomasse des K-stratèges qui est un pool plus accessible. Par contre, contrairement aux hypothèses de Fontaine et Barot (2005) décrite précédemment, un PE négatif en absence d'apport en nutriments, peut également traduire une recharge énergétique des K-stratèges. (Bernard et al., 2007)

Ainsi, nous avons d'abord posé l'hypothèse que les deux mécanismes de PE entrainent conduisent à deux destinée différentes de la MOS. Le PE généré par la théorie stœchiométrique, serait plutôt une stimulation de la voie de l'humification, et donc un processus qui alimenterait la banque. Le PE par « nutrient mining » serait plutôt relié au déstockage de nutriments.

## V.4.B. Coexistence spatiale et temporelle des deux mécanismes

Même si ces deux processus sont pilotés de façon inverse par la teneur en nutriments de la solution du sol, il nous semble évident qu'ils peuvent coexister dans l'espace et dans le temps. En effet, lorsqu'une MOF végétale complexe arrive au sol, celle-ci est composée d'une part de molécules solubles, monomères ou polymères mais facilement décomposables et assimilables, (sucres, acides aminés, hémicelluloses, protéines, acides gras) et d'une part de molécules polymérisées plus récalcitrantes (celluloses, lignines, polyphénols). Les populations à croissance rapide vont plutôt attaquer les composés labiles, en utilisant les nutriments de la solution du sol, et générer du PE par la théorie stœchiométrique. Les populations à croissances lentes vont pouvoir attaquer la part réfractaire de la MOF et aller chercher les nutriments dans la MOS humifiée et encore plus récalcitrante (nutrient mining).

Ainsi nous avons émis l'hypothèse que la nature de la MOF induisant le PE déterminerait le mécanisme de génération de PE et permettrait la coexistence des deux mécanismes. Ainsi, sur une cinétique, les populations à croissance rapide seraient plus compétitives pour utiliser les composés labiles ainsi que les nutriments de la solution du sol. Le PE par voie stœchiométrique devrait donc avoir lieu en début de cinétique. Lorsque les nutriments sont épuisés, ces microorganismes stoppent leur activité et laissant le reste du C frais à disposition des populations à croissances lente générant du PE par « nutrient mining ». Notre hypothèse semble corroborer les observations de Derrien *et al.* (2014), sur le fait que la MOS minéralisée en début de cinétique est plus jeune que celle minéralisée en fin.

# V.4.C. Les acteurs de chaque mécanisme

Selon Derrien *et al.* (2014), il existe une relation entre la vitesse de croissance des microorganismes générateurs de PE et l'âge de la MOS impactée.

Les stratèges r seraient donc responsables du PE stœchiométrique tandis que les stratèges K seraient responsables du PE par nutrient mining. Le concept r et K traduisant un continuum et non deux groupes bien définis, le premier problème est donc de trouver une limite afin de classer les groupes phylogénétiques dans ces catégories fonctionnelles. De plus, certains stratèges r ne participent pas à la dépolymérisation de la MO. Ils ne font que consommer les petites molécules directement assimilables. Il est important de les différencier des stratèges r qui dépolymérisent la MOF, car ces deux groupes sont en compétition pour les nutriments de la solution du sol.

Afin de différencier les groupes en compétition pour les nutriments, nous avons préféré la terminologie de Moorhead et Sinsabaugh (2006) discriminant 3 groupes fonctionnels : les opportunistes, les décomposeurs et les mineurs. Nous avons ainsi pu émettre l'hypothèse que les décomposeurs seraient responsables de la dépolymérisation d'une MO jeune, donc du PE

stœchiométrique, quand les mineurs seraient responsable de la celle d'une MO plus ancienne et donc du PE par « nutrient mining ».

Il n'existe pas de méthodes d'observation directe permettant de quantifier la taille de chacun de ces groupes. La démarche assez classique que nous avons choisie a été de classer dans ces groupes les microorganismes identifiés sur un plan phylogénétique. Ce classement a été fait en fonction de leur corrélation avec la minéralisation de la MOS, de la MOF et du PE généré à 2 temps de la cinétique, et de leurs traits fonctionnels connus à partir de la littérature. Plusieurs études ont permis d'avoir un aperçu de la composition des groupes responsable du PE. Ainsi, le groupe des décomposeurs, responsable du PE stœchiométrique, serait composé des Firmicutes (Bernard *et al.*, 2007, 2009; Pascault *et al.*, 2013), des Bacteroidetes (Pascault *et al.*, 2007, 2009). Le groupe des mineurs, responsable du PE par « nutrient mining », serait composé d'Acidobacteria, Verrucomicrobia, Gemmatimonadetes et de certaines classes de Proteobacteria (Bernard *et al.*, 2007, 2009; Pascault *et al.*, 2013).

## V.4.D. Les déterminants de chaque mécanisme

Très peu d'études ont abordé le PE comme le résultat de plusieurs processus différents. Mais d'après la description des deux mécanismes et nos hypothèses précédentes, on peut déjà proposer des déterminants évidents de ces processus. Le premier déterminant qui a déjà été vérifié par Chen et al. (2014) est la teneur en N de la solution du sol qui va donc favoriser le PE stœchiométrique par rapport au « nutrient mining ». Fontaine et al., (2003) ont également suggéré que qualité de la matière organique induisant le priming effect pouvait déterminer de quel mécanisme résulterait le PE. L'apport d'une matière organique facilement décomposable par les microorganismes, tels que le glucose, favoriserait les stratèges r et ainsi le PE stœchiométrique. L'apport d'une matière organique végétale, tel que le ray-grass, favoriserait le PE via « nutrient mining » après l'épuisement de la part soluble de la matière organique. Après cet épuisement, les stratèges K seraient plus compétitifs pour la décomposition de la part polymérisée. Cette hypothèse a été confirmée par Guenet et al. en 2012 sur des essais à long terme. La qualité de la matière organique du sol serait également un déterminant du mécanisme de PE induit. Une matière organique peu évoluée favoriserait le PE stœchiométrique par rapport au « nutrient mining ». Enfin, comme pour la minéralisation de la MOS, le climat pourrait diriger les deux mécanismes de priming effect. La

température, via son effet sur la qualité de la MOS, favoriserait le PE via « nutrient mining » par rapport au PE stœchiométrique. La pluviométrie, via son effet sur le pH, le lessivage du N et la formation du P par le biais de l'altération des roches, influencerait la communauté microbienne du sol en favorisant les stratèges K par rapport aux stratèges r.

# V.5. Conclusion

Les différentes études sur le priming effect a permis de suggérer que le PE pouvait être généré par deux mécanismes différents, les mécanismes de décomposition stœchiométrique et de « nutrient mining ». Le PE stœchiométrique est la décomposition collatérale d'une MO peu évoluée du sol par les r-stratèges qui libèrent des enzymes extracellulaires pour décomposer la MOF. Le PE par « nutrient mining » est le métabolisme de la MOF et de la MOS par des K-stratèges pour extraire l'énergie de la MOF et les nutriments de la MOS. L'équilibre entre ces deux mécanismes est sous l'influence de déterminants tels que la disponibilité en nutriments, la qualité et la quantité de la MO mais aussi le climat. Cependant, la plupart des études se sont focalisées sur des sols de milieu tempéré et carencés en azote. Peu d'études ont permis de confirmer l'existence de ces deux mécanismes de génération du priming effect dans des sols tropicaux notamment carencés en phosphore. Ainsi, dans ce travail de thèse, nous nous sommes concentrés sur des ferralsols malgaches connus pour être carencés en phosphore.

## VI. Le Contexte de Madagascar

# VI.1. Diversité de paysages, climats et production végétales

Madagascar présente une grande diversité de sols dont l'étude a été initié dès les années 1900 et dont la première cartographie a été réalisée en 1937 par Besairie (Erhart, 1926; Feller *et al.*, 2007). Différentes classifications ont été élaborées en fonction des processus de pédogenèse ou en fonction de leurs propriétés (Fig. 10).



Figure 10 : carte pédologique de Madagascar. Classification FAO de 1974

La classification de la FAO constitue une synthèse efficace entre les différents systèmes de classification et est beaucoup utilisé dans les publications scientifiques. Elle est constituée de 13 groupes qui sont séparés en unités (tableau 1 ; Duchaufour, 1991).

Dans ce travail de thèse, nous nous sommes focalisé sur les Ferralsols qui couvrent plus de 35% de la superficie de l'Ile. Ils sont principalement situés sur les Hautes Terres et la partie Est de l'île. Les Ferralsols sont des sols profonds caractérisés par une importante altération aboutissant à des matériaux argileux, pouvant contenir des hydroxydes d'aluminium et ont une capacité d'échange cationique inférieure à 16 cmol<sup>+</sup>.kg<sup>-1</sup>.

Groupes	Superficies (km²)	Aire relative pour Madagascar (%)	
Ferralsols	209 104 069	35,4	
Cambisols	106 317 440	18	
Luvisols	60 083 661	10,2	
Arenosols	57 502 344	9,7	
Regosols	54 394 709	9,2	
Nitisols	39 597 850	6,7	
Fluvisols	25 278 558	4,3	
Lithosols	21 558 230	3,7	
Vertisols	7 146 038	1,2	
Gleysols	6 480 420	1,1	
Histosols	1 620 121	0,3	
Acrisols	223 547	0,04	
Solonchak	148 943	0,03	
Non cartographié	1 274 120	0,2	

Tableau 1 : Distribution des sols malgaches selon la classification de la FAO

En plus de cette grande diversité de sols, Madagascar se trouve dans la zone intertropicale et est soumise à une grande diversité de climats. La carte des régions climatiques par Raunet (1997) montre 6 types de climat dont les critères de classification sont basés sur la pluviométrie annuelle moyenne, puis sur la température moyenne du mois le plus sec et sur le nombre de mois secs. Ces types de climat varient donc d'un climat perhumide, à pluviométrie annuelle supérieure à 2000 mm (côte Est de l'île) à un climat très aride avec une pluviométrie annuelle inférieure à 400 mm (extrême sud-ouest de l'île). La zone des Hauts Plateaux, au centre de l'île et point central de ce travail de thèse correspond à un climat subhumide d'altitude avec une pluviométrie annuelle comprise entre 1000 et 1500 mm. Cette variété de climats entraine une grande biodiversité et une grande diversité de paysages. Ainsi, le pays présente de nombreuses régions agro-économiques lui conférant de grandes potentialités agricoles et une grande diversité de productions végétales. Ainsi on peut retrouver, sur les Hauts Plateaux des cultures de fruits tempérés, de tomates, du thé et des cultures vivrières, dans le Nord de l'île, des cultures de canne à sucre, de cacao ou de vanille, dans l'Est des cultures de café, de girofle, de litchi, dans l'Ouest, des cultures de noix de cajou et enfin dans le Sud des cultures de pois du cap, ou de haricot.

Sur les Hauts plateaux, les fonds de vallée, zones les plus fertiles, sont dédiés à la riziculture irriguée. Les baiboho, plaines alluviales adjacentes aux fonds de vallée, sont quant à eux dédiés au maraichage. Le riz étant capital pour la population malgache, cette culture est la plus importante à Madagascar et nécessite une expansion. Cependant, les fond de vallée sont de plus en plus saturées ce qui entraine l'exploitation des versants de collines, appelés « tanety » pour la culture de riz pluvial (Fig. 11 ; Razafimahatratra, 2011).



Figure 11: Paysage agricole typique des Hauts plateaux, région Itasy

## VI.2. L'insécurité alimentaire

Selon une projection réalisée par International Statistics (2012), la population malgache atteindra 28.374.000 en 2020. Par contre les gains en production alimentaire, surtout pour le riz, resteront inférieurs au rythme de croissance de la population. Près de 76% de la population souffrent de carence alimentaire à Madagascar (INSTAT, 2013) avec une grande prévalence dans les milieux ruraux. Le développement agricole durable est fondamental pour la sécurité alimentaire et la lutte contre la pauvreté, (Pretty *et al.*, 2011).

L'agriculture emploie 72% de la population active malgache pour 26% du PIB et fournit l'essentiel de la consommation alimentaire des ménages (Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique [MESupReS], 2015). De plus, le secteur agricole joue également un rôle important dans les échanges commerciaux de Madagascar (Ministère de l'agriculture, de l'élevage et de la pêche [MAEP], 2009). La polyculture est pratiquée par 83% des exploitations agricoles avec les cultures vivrières, telles que le riz ou le manioc, généralement destinées à l'autoconsommation. (INSTAT, 2013). Les ménages agricoles s'adonnent en général à environ moins de 5 cultures, au cours d'une campagne. L'agriculture traditionnelle, peu intensive, présente de faibles rendements directement liés à la faible taille des exploitations (moins de 1,5 ha) et à la faible fertilité des sols. Le riz, première culture du pays, est cultivé dans les bas-fonds, dans les plaines et la riziculture pluviale prendre de plus en plus d'essors sur les sols des tanety. Aliment de base, avec une consommation annuelle de 130 kg par habitant, le riz occupe une place importante dans la culture malgache. Pourtant, Madagascar n'est plus autosuffisant en riz et en importe annuellement 162.000 tonnes (MESupReS, 2015). De plus, en 2010, le taux de pauvreté rurale était presque deux fois plus élevé que celui relevé dans les zones urbaines (Banque mondiale, 2015).

#### VI.3. Agriculture des Hauts plateaux

Sur les Hauts plateaux, la surface agricole potentielle pouvant se prêter aux grandes cultures et aux zones de pâturage est estimée à plus de 35 millions d'hectares et 65% de cette surface agricole utile est située sur les collines ou « tanety ». Ainsi ces « tanety », sous climat subhumide, représentent un fort potentiel pour augmenter la production agricole malgache (Rabeharisoa, 2004). Cependant, les sols des « tanety », majoritairement du type Ferralsol, présente des teneurs élevées en hydroxydes de fer et d'aluminium (Ségalen, 1994; Chávez et al., 2009), limitant ainsi la biodisponibilité du phosphore. De plus, dans ces sols ferrallitiques âgés et sensibles à l'érosion, l'azote minéral est vite perdu par lixiviation. Les sols ferrallitiques sont donc des sols très sensibles à l'érosion surtout après élimination de la couverture végétale. Les sommets et les pentes sont alors érodés, entrainant ainsi la disparition des couches arables des champs de culture et l'ensablement des bas-fonds (MESupReS, 2015). Cette érosion des sols de « tanety » peut être le résultat de certaines pratiques traditionnelles sur-utilisées à cause de la pression démographique. Les feux de brousses et feux de forêts, dont les raisons sont multiples, sont une des principales causes de destruction des ressources naturelles à Madagascar. En effet, les feux ne détruisent pas seulement la végétation mais s'attaquent également au système pédologique et hydrique (MESupReS, 2015). La culture sur brûlis reste la pression majeure et déterminante sur l'équilibre de l'écosystème forestier. Plusieurs habitats écologiques sont ainsi détruits (MESupReS, 2015). Ces pratiques sont notamment liées au fait que le coût des intrants chimiques les rend pratiquement inaccessibles à la majorité des paysans (Andrianjafy Andriamanindrisoa, 2004 ; INSTAT 2013). La gestion des déchets organiques, tels que les résidus de récolte, composts ou fumiers

animaux, peut ainsi apparaitre comme une meilleure alternative pour la fertilisation des systèmes de culture.

Dans le contexte actuel de d'adaptation et lutte contre le changement climatique et d'augmentation de la sécurité alimentaire pour les populations, une agriculture basée sur la gestion des matières organiques des exploitations agricoles permettrait de gérer, voire d'améliorer, la fertilité des sols ferrallitiques tout en permettant de contrebalancer les flux de gaz à effet de serre (Agren, 2010). Pour cela, il est nécessaire d'utiliser des pratiques agricoles permettant de diriger les processus du sol tels que l'humification de la matière organique ou plus généralement le stockage de carbone dans le sol mais également d'utiliser des pratiques agricoles promouvant la biodiversité des sols.

#### VI.4. Le projet CAMMiSolE

Ce travail de thèse s'inscrit dans le projet de recherche international CAMMiSolE (Effet du Changement global en Afrique de l'ouest et à Madagascar sur la diversité des Microorganismes du Sol et ses conséquences sur les services Ecosystémiques) financé par la Fondation pour la Recherche sur Biodiversité (FRB). Ce projet vise à comprendre le rôle de la biodiversité microbienne dans les transformations des matières organiques des sols des agrosystèmes dans un contexte de changement climatique. Ce projet est ciblé sur deux régions à pédoclimats contrastés d'Afrique sub-saharienne, les Haut plateaux de Madagascar (sols argileux et climat subhumide) et l'Afrique de l'Ouest (sols sableux et climats arides). Il a pour objectif de comprendre comment des gradients climatiques et des pratiques agricoles permettent de piloter l'équilibre minéralisation/stockage en modifiant la composition des communautés microbiennes, et ainsi favoriser le stockage du carbone à long terme dans les parcelles agricoles comme moyen d'adaptation au changement climatique. Les résultats de ces recherches doivent permettre l'élaboration d'un modèle en 3D permettant de réaliser des scénarios de biodiversité en fonction des différentes pratiques agricoles et du climat. Ce modèle doit être doté d'une interface conviviale afin de générer un outil d'aide à la décision des ingénieurs agricoles, ou des maîtres exploitants formés par l'ONG AgriSud pour tester et diffuser auprès des autres exploitants agricoles certaines pratiques agroécologiques. Ce projet regroupe 5 partenaires académiques français (INRA-Agroécologie Dijon, IRD- Eco&sols Montpellier et IRD-UMMISCO Bondy), malgache (LRI) et sénégalais (ISRA). Il regroupe également deux ONG dont AgriSud international, basé dans la région d'ITASY, et qui nous a introduits auprès de son réseau de cultivateurs pour les prélèvements de sols de nos études (chapitres III et IV). Grâce à ce réseau de partenaires, j'ai pu également me former et réaliser toute les analyses de biologie moléculaire à l'INRA de Dijon.

## VI.5 Objectifs et réalisation de ce travail de thèse

Les sols tropicaux sont des sols âgés et carencés en éléments minéraux tel que le phosphore. C'est le cas de la majorité des sols malgaches. Sur les tanety, l'agriculture est principalement pluviale et, en absence de fertilisation minérale, axée sur la gestion des matières organiques. Ainsi, l'optimisation de la gestion de la MO pourrait être un des leviers accessibles pour l'amélioration des rendements agricoles à Madagascar, l'amélioration de leur durabilité et de leur résistance/résilience face aux perturbations climatiques. Le priming effect (PE), selon son mécanisme de génération peut amener soit (1) à une stimulation de la voie de l'humification et donc au stockage durable de matière organique riche en nutriments dans les sols, soit (2) à une minéralisation de la matière organique évoluée déjà existante, permettant la remise à disponibilité des nutriments emprisonnés mais à un appauvrissement du stock de C.

Le principal objectif finalisé de cette étude est de contribuer à la proposition de pratiques agricoles permettant d'augmenter durablement le stock de matière organique riche en nutriments, afin d'améliorer à long terme la fertilité des sols et de lutter contre le changement climatique (adaptation mais aussi en contribuant à son atténuation). Ce travail de thèse vise donc à :

- identifier les acteurs microbiens impliqués dans les deux processus de génération du PE.
- identifier les déterminants proximaux agissant sur chacun des processus de génération du PE.
- comprendre comment le climat et les pratiques agricoles (déterminants distaux) modifient l'intensité de ces deux processus en jouant sur les déterminants proximaux et les diversités et activités microbiennes.

Pour atteindre ces objectifs, nous avons réalisé trois études.

 Dans la première étude (chapitre II), nous avons étudié des sols « naturels » de savanes herbacées sous l'influence d'un gradient climatique à deux composantes (température et pluviométrie). Pour cela, nous avons réalisé un échantillonnage centré sur les Hauts plateaux et orienté sur des transects permettant de mettre en valeur tantôt l'effet « température moyenne annuelle », tantôt l'effet « pluviométrie annuelle ».

- Dans la deuxième étude (chapitre III), nous avons voulu aller plus loin dans la compréhension des processus et nous avons donc réalisé en laboratoire une incubation de 3 sols issus de parcelles cultivées (région d'ITASY), de physicochimie différente (teneur en MO, en NH<sub>4</sub><sup>+</sup> et en PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>). Nous avons amendé ces sols avec 3 qualités de MOF différente (glucose, paille de riz et paille de blé) afin d'identifier l'effet de leurs qualités sur l'intensité et les différents processus de génération du PE.
- Enfin dans la dernière étude (chapitre IV), nous avons échantillonné un réseau de parcelles d'agriculteurs dans la région d'ITASY afin de discriminer l'effet les pratiques agricoles sur le PE stœchiométrique. Les pratiques agricoles dans cette région tournent autour de la gestion de la MO et ce PE, puisqu'il doit favoriser le stockage de la MO dans le sol, permettrait d'améliorer l'exploitation de la MO.

L'approche que nous avons choisie est basée sur un échantillonnage de sol, suivi d'une caractérisation des paramètres physicochimiques (texture, minéralogie, C, N, P, pH, CEC, etc.) de chaque échantillon ainsi qu'une description des paramètres microbiens (C, N et P microbien, quantité d'ADN) et moléculaire (18S/16S, composition des communautés bactériennes et fongiques par pyroséquençage). Chaque échantillon a ensuite été mis à incuber en présence ou absence de substrat enrichi en <sup>13</sup>C, afin de mesurer la respiration basale, la minéralisation du substrat et le PE à un ou deux temps d'incubation suivant l'étude (7 jours chapitre IV, ou 7 et 42 jours chapitre II et III). Les particularités entre les études sont présentées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Tableau récapitulatif des 3 études

Etude	nombre d'échantillons	couvert végétal	Incubation	Analyses à T0	Analyses à T7	Analyses à T42	amendements
Chapitre II	41	savane herbeuse	7j – 42j	paramètres physico- chimiques ; paramètres microbien ; paramètres moléculaires	suivi de l'émission de CO <sub>2</sub> des sols contrôles et amendés	suivi de l'émission de CO₂ des sols contrôles et amendés	paille de blé
Chapitre III	3	sol nu, jachère, riz pluvial	7j – 42j	paramètres physico- chimiques ; paramètres microbien ; paramètres moléculaires	suivi de l'émission de CO <sub>2</sub> des sols contrôles et amendés ; paramètres moléculaires	suivi de l'émission de CO <sub>2</sub> des sols contrôles et amendés ; paramètres moléculaires	glucose, paille de blé, paille de riz
Chapitre IV	49	cultures vivrières, agroforesterie, foresterie	7j	paramètres physico- chimiques ; paramètres microbien ; paramètres moléculaires	suivi de l'émission de CO <sub>2</sub> des sols contrôles et amendés ; mesures du P et N minéral dans les sols	aucunes	paille de blé

# Chapitre II : Soil microbial diversity drives the priming effect along climate gradients – A case study in Madagascar

Ce chapitre est présenté sous la forme d'un article sous presse à ISME journal (Annexe 2)

Kanto Razanamalala, Tantely Razafimbelo, Pierre-Alain Maron, Lionel Ranjard, Nicolas Chemidlin, Mélanie Lelièvre, Samuel Dequiedt, Volaniaina H. Ramaroson, Claire Marsden, Thierry Becquer, Jean Trap, Eric Blanchart & Laetitia Bernard

## I. Introduction

Priming effect is an increase in soil organic matter mineralization by microorganisms following fresh organic matter (FOM) input (Bingeman et al., 1953; Kuzyakov et al., 2000). After more than two decades of increasing research effort, PE-generating mechanisms, determinants and actors still need to be elucidated (Fontaine et al., 2003; Bernard et al., 2007, 2009, 2012; Pascault et al., 2013; Chen et al., 2014). Based on a literature review, Fontaine et al., (2003) proposed that PE can be generated by two different mechanisms: (1) indirectly via collateral damage exerted on soil organic matter (SOM) by extracellular enzymes released by FOM feeders, and (2) directly via the co-metabolism of energy-rich FOM catabolites by SOM feeders who mine SOM for nutrients. Recently Chen et al., (2014), used the denomination of "stoichiometric decomposition theory" and "nutrient mining theory" for each mechanism respectively. These authors showed that the first process is favoured by high nitrogen concentration while the second takes place in case of nitrogen depletion. Therefore, when fresh carbon inputs are not accompanied by nutrient inputs, PE should first be generated by stoichiometric decomposition, followed by nutrient mining after exhaustion of available nutrients in the soil solution. Other authors have shown that during PE generation, early PE corresponded to the mineralization of young, labile SOM by fast-growing microbes whereas late PE targeted old SOM and involved slow-growing populations (Derrien et al., 2014; Blagodatskaya et al., 2014). As a consequence, PE generated by stoichiometric decomposition should result from the activity of faster-growing microbes than PE generated by nutrient mining (Fontaine et al., 2003; Chen et al., 2014). Using the coupling of isotopic and molecular approaches, a small number of studies have identified phylogenetic groups involved in the mineralisation of wheat residues and potentially involved in the different PE processes at different decomposition stages (Bernard et al., 2007; Pascault et al., 2013). However, except for the soil nitrogen status, so far no other determinant of PE-generating processes is known.

The PE has been suspected to increase SOM mineralization in the context of global warming *via* the potential increase in labile carbon (C) inputs by plants to the soil in response to CO<sub>2</sub> elevation (Heimann and Reichstein, 2008). However, it is not known whether temperature elevation (or rainfall variation) will be able to drive PE through the selection of different microbial guilds and/or the modification of the metabolism of the populations. This question is crucial for soil carbon sequestration, because if PE generated by nutrient mining leads to
stable SOM depletion, PE generated by stoichiometric decomposition can be considered as a stimulation of the decomposition of young SOM and therefore a stimulation of the humification route.

The objective of this study was to determine how climatic parameters drive the capacity of microbial communities to mineralize organic matters and generate PE, through one or another previously described mechanism, in Ferralsols across the centre of Madagascar. The rapid climate changes likely to occur in the tropics (Neelin et al., 2006), and the necessity for soils to sequester carbon and recycle nutrients from SOM for plant growth justify the need to deepen the understanding of the drivers and microbes involved in the generation of PE in the tropics. Madagascar is a highly relevant region to study these aspects due to the existence of crossed gradients of temperature and rainfall on the same soils (Ferralsols which account for 750 million ha of world-wide tropical areas and which are strongly nutrient-depleted) and with the same vegetation type (natural savannas locally called 'Bozaka'). Climatic gradients are useful to project the long-term response of microbial communities and C turnover under a situation of increasing temperature or rainfall, that are particularly difficult to set up in developing countries. Soil samples were collected under natural herbaceous savannas along several gradients allowing to separate the effects of mean annual temperature (MAT) and mean annual precipitation (MAP). Soils were first characterized on the basis of the most important biotic and abiotic descriptors: microbial biomass, diversity and composition, soil texture, mineralogy, pH, water content, cationic exchange capacity, bulk density, total C, N, P contents, and available N and P contents. They were further incubated for 42 days to assess their capacity to mineralize wheat straw and SOM and to generate PE through both previouslydescribed mechanisms.

# II. Materials and methods

# II.1. Experimental site and soil sampling

This study was carried out in the central part of Madagascar. Hillsides are dominated by Ferralsols according to the FAO classification and are subjected to a hot rainy season from November to April and a cold dry season from May to October (Fig. 1). In May 2014, soil samples from 41 plots were collected under similar vegetation (natural herbaceous savannas

dominated by the grass *Aristida* sp., Poaceae). Plots were located along three national roads (Fig. 1- RN4, RN34 and RN7), allowing effects of MAT and MAP to be distinguished.

The mean annual temperature and precipitation of the three climatic gradients ranged from 18.6 to 25.5°C and from 1359 to 1508 mm for RN34, from 17.7 to 26.8°C and from 1327 to 1817 mm for RN4, and from 16.4 to 22°C and from 779 to 1491 mm for RN7. The mean annual temperature and rainfall data were extracted from the WORLDCLIM database (Hijmans *et al.*, 2005), obtained from 1950 to 2000, on the basis of the geographic coordinates of each sampling point. Unfortunately, no data were available at this scale for the following 14 years. Climate studies in Madagascar indicate that between 1961 and 2005, in the Highlands of Madagascar, MAT increased by 0.02°C.y<sup>-1</sup> while MAP slightly decreased; this tendency is expected to increase during the next decades (Randriamarolaza, Meteo Madagascar, unpublished). In each plot, six soil cores, 0-10 cm depth and 1 m apart, were sampled using a metallic cylinder. One core was used to measure soil bulk density and other physicochemical parameters. The remaining 5 soil cores were pooled, sieved at 2 mm, and coarse plant debris were removed. Composite samples were maintained at 4°C for no more than one week, prior to further fresh soil incubations and analyses.

#### II.2. Soil characterization

Different soil parameters, i.e. amorphous aluminium and iron oxide contents and soil pH-H<sub>2</sub>O in the 0-10cm horizon were collected from the Madagascar soil database. All the other parameters were measured after our sampling in May 2014. Soil bulk density and water content were calculated by weighing fresh and oven-dried bulk soil cores. Particle size distribution was determined by the Robinson pipette method (Pansu and Gautheyrou, 2007). The effective cation exchange capacity (CEC) was determined by suspending soil in cobaltihexamine chloride solution (100 mg.l<sup>-1</sup>; 1:10 ratio) at soil pH and measured by flame spectrophotometry (Ciesielski *et al.*, 1997). Total carbon (C) and nitrogen (N) contents were evaluated by dry combustion in a CHN analyser (PerkinElmer Inc., Waltham, MA, USA).

Soil mineral contents (i.e. kaolinite and gibbsite) were estimated by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS), using the model developed by Ramaroson et al. (2017).



Figure 1: Map of the study region with isohyets. (a: average annual temperature; b: average annual precipitation) and locations of the 40 sampling sites. Climatic data were obtained from the WORLDCLIM database (Hijmans et al., 2005)

The nitrate and ammonium (NO<sub>3</sub> and NH<sub>4</sub>) contents, obtained after KCl extraction, were determined by colorimetry according to the Berthelot reaction (NH<sub>4</sub>) and the Griess reaction (NO<sub>3</sub>) (Mulvaney, 1986) using an automated continuous flow analyser San<sup>++</sup> (Skalar analytique, France). The total P content was determined using perchloric acid attack (Jackson, 1958). The available phosphorus (av P) content and microbial biomass P (MBP) were measured using anion exchange resin after a fumigation-extraction method (Kouno *et al.*, 1995) adapted from Amer *et al.*, (1955).

# II.3. Molecular analyses of soil bacterial and fungal communities

After field sampling, 50 g subsamples were maintained at 4°C, transported to France (Genosol platform, Dijon) and lyophilized for further molecular analyses. Microbial DNA was extracted from 2 g of lyophilized soil subsamples using the procedure described in (Plassart et al., 2012). Quantification of DNA extracted from soil was used to estimate the "microbial molecular biomass" (MMB) in each sample, as it corresponds to the amount of DNA extracted from 1 g of soil (Marstorp et al., 2000; Widmer et al., 2006; Dequiedt et al., 2011). Quantitative real-time PCR was performed on extracted DNA to quantify 16S and 18S rDNA gene sequences (Lienhard et al., 2012; Plassart et al., 2012), which led to the estimation of the fungal to bacterial ratio (F:B). For microbial diversity and composition analyses, banks of 16S and 18S ribosomal sequences were prepared prior to pyrosequencing analyses as described in Maron et al. (2011). Pyrosequencing was carried out on a GS FLX Titanium (Roche 454 Sequencing System). Biocomputering analysis of the sequences was performed using the GnS-PIPE (Terrat et al., 2012), as described in detail in Tardy et al., (2015). In order to compare the datasets efficiently and avoid biased community comparisons, the sample reads were reduced by random selection closed to the lowest datasets (3000 reads for 16S- and 18S-rRNA gene sequences respectively for each soil sample). The retained high-quality reads were used for taxonomy-based analysis using similarity approaches and dedicated reference databases from SILVA. Richness and diversity indices (number of OTUs, Evenness index) were determined at a dissimilarity threshold of 5%.

DNA sequences were deposited in the European Nucleotide Archive, under the study accession number PRJEB19651.

#### II.4. Soil microcosm set-up and priming effect assessment

To assess the potential capacity of microbial communities to mineralize soil and fresh organic matter at a similar temperature of 27°C (*i.e.* regular incubation temperature for tropical soil - Bernard *et al.* 2012), fresh composite soil samples were used to fill 2 series of 150-ml plasma flasks with 10 g of equivalent dry soil. The soil water content was adjusted to 70% of the saturation threshold using sterile deionized water. Both series were pre-incubated for 7 days in the dark. Then, one of the microcosm series was amended with 7% <sup>13</sup>C- labelled wheat straw powder (0.004 g straw. g<sup>-1</sup> of dry weight soil) characterized by a C:N:P ratio of 108:4:1; the second series was not amended.

The microcosms of both series were then incubated (open, i.e. unsealed) for 42 days. The soil water content was controlled throughout the incubation and adjusted with sterile deionized water when needed to prevent variation in soil moisture. Measurements of CO<sub>2</sub> emissions (total CO<sub>2</sub> and <sup>13</sup>C-CO<sub>2</sub>) were performed on the 7<sup>th</sup> and 42<sup>nd</sup> day of the incubation, to correspond to "early" and "late" steps of FOM mineralization and PE. Prior to gas sampling, the microcosms were flushed with air to renew the atmosphere and were hermetically sealed for 3 days before measurements were conducted.

# II.5. Total CO<sub>2</sub> and <sup>13</sup>C-CO<sub>2</sub> measurements

The total atmospheric CO<sub>2</sub> concentration was measured in all microcosms using a micro-CPG (CP-4900, Varian, Middelburg, The Netherlands). A 5-ml volume of the gaseous phase, of the straw-amended microcosms only, was sampled in Exatainer evacuated tubes (LABCO limited, UK) for further determination of carbon isotopic abundances using IRMS as described in Bernard *et al.* (2012).

PE was calculated as follows: PE = total measured  $CO_2$  of the straw-amended microcosm - straw-derived  $CO_2$  (calculated from the  ${}^{13}CO_2$  atomic percentage, SM for straw mineralization) - total  $CO_2$  measured in the non-amended microcosm (BR for basal respiration).

#### II.6. Statistics

Pearson correlations between all variables were calculated using XLSTAT software (Addinsoft, France). Significance of correlations was tested by the Bartlett test. All variables correlating to at least one of the carbon mineralization activities (BR; SM; PE), positively or

negatively, at 7 or 42 days, and at a signification threshold of 1%, were retained to build up a principal component analysis (PCA).

#### III. <u>Results</u>

Raw data obtained on each sampling plot from the analysis of all physicochemical and microbial parameters are presented in Dataset 1, with the principal descriptive statistics. The complete Pearson correlation matrix generated from Dataset 1 is presented in Dataset 2, while the PCA built on variables significantly (P values < 0.01) correlated to basal respiration, straw mineralization or PE is shown in Fig. 3.

#### III.1. Soil physicochemical properties

Soils were sampled at 60 to 1600 m a.s.l. and were mainly sandy clay loam or clay textured soils. Mean metal oxide contents s were 1.3 mg.g<sup>-1</sup> soil for aluminium and 1.6 mg.g<sup>-1</sup> soil for iron. Mean soil carbon content was about 2% with a C:N ratio of 16, mean mineral nitrogen content was 6 mg.kg<sup>-1</sup> soil and mean available phosphorus was 0.6 mg.kg<sup>-1</sup>. Mean bulk density was 1.3 g.cm<sup>-3</sup>, mean pH 5.5 and mean CEC 2.7 cmol+.kg<sup>-1</sup> of soil. Correlations between soil, site and climate variables are described in dataset 2. Higher altitudes were characterized by higher clay content, especially of gibbsite type, higher soil C and N contents and a higher C:N ratio. By contrast, bulk density, pH and CEC were lower at these altitudes compared to lower altitudes - and warmer climates, as altitude was strongly negatively correlated to mean annual temperature (MAT). Some variables were correlated to mean annual precipitations (MAP), either positively, i.e. clay content, pH, and iron oxides, or negatively: sand content, soil C:N and available P. The first axis of the PCA (Fig. 3) represented more than 38% of the total variance and was driven by the MAT, while the second axis accounted for only 14% of the total variance and was mainly driven by the MAP.

#### III.2. Abundance and diversity of bacterial and fungal communities

The microbial communities from savanna Malagasy Ferralsols showed an F:B ratio ranging from 0.02 to 0.21 (Dataset 1). The main bacterial phyla (> 10% of total sequences each) were Proteobacteria, Planctomycetes, Acidobacteria, Actinobacteria and Chloroflexi and major fungal phyla were Ascomycota and Basidiomycota. Unknown sequences represented 16% and 6% of total bacterial and fungal sequences, respectively. MAT was positively correlated to bacterial evenness, Unknown bacteria, Actinobacteria, Chloroflexi, Acidobacteria-GP4 and Armatimonadetes (Fig. 3, Dataset 2). Oppositely, microbial molecular biomass (MMB - *i.e.* DNA extraction yield), microbial biomass phosphorus (MBP – giving also an idea of the physiological status as P enters in DNA and RNA molecules), the bacterial density assessed by the number of 16S ribosomal genes (DNA 16S), Planctomycetes, all Proteobacteria subgroups and Acidobacteria GP-1,-2,-6, were negatively correlated to MAT. MAP was positively correlated only to Chloroflexi and negatively to Actinobacteria.

# III.3. C-mineralization

Considering all sampling sites and the whole incubation period, basal respiration ranged between 0.087 and 1.042  $\mu$ g C-CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> soil h<sup>-1</sup>. Straw mineralization ranged between 0.242 and 2.634  $\mu$ g C-CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> soil h<sup>-1</sup>. The PE ranged between -15 % and 130% of basal respiration (Fig. 2 - Dataset 1).

Basal respiration did not change over time and was strongly and negatively linked to MAT (table 1). Straw mineralization was strongly and negatively linked to MAP at 7d and slightly positively correlated to MAT at 42d. PE switched from being strongly and negatively correlated to MAT at 7d, to being positively correlated to MAT at 42d.

Table 3: Partial correlation matrix between climatic variables, and C mineralization activities registered at both incubation times (7 and 42 days).

Variables	7d_BR	7d_SM	7d_PE	42d_BR	42d_SM	42d_PE
MAP	-0.142	-0.646	-0.071	-0.290	-0.308	0.274
MAT	-0.704	-0.242	-0.537	-0.625	0.322	0.458
t7_BR	1	0.084	<u>0.371</u>	0.883	-0.242	-0.483
t7_SM	0.084	1	0.126	0.182	0.093	-0.357
t7_PE	<u>0.371</u>	0.126	1	0.538	-0.269	-0.465
t42_BR	0.883	0.182	0.538	1	-0.104	-0.635
t42_SM	-0.242	0.093	-0.269	-0.104	1	0.591
t42_PE	-0.483	-0.357	-0.465	-0.635	0.591	1

Bold correlation coefficients represent P-values < 0.01, and underlined correlation coefficients represent P-values < 0.05. MAP: Mean Annual Temperature; MAT: Mean Annual Rainfall; BR: Basal Respiration; SM: Straw Mineralization; PE: Priming Effect.



Figure 2: Cumulative histogram plot of (A) basal respiration. (B) straw mineralization and (C) PF at 7 and 42

Figure 2: Cumulative histogram plot of (A) basal respiration, (B) straw mineralization and (C) PE at 7 and 42 days of incubation of the 41 sampled soils.

Basal respiration at both incubation dates was positively correlated to soil clay and gibbsite contents, C, N and P content and C:N ratio (table 2 – Dataset 2). Straw mineralization at 7d was positively related to soil available P content and negatively related to pH and iron oxide content. A positive correlation was visible with mineral N but was not significant even at a P value <0.05 (Dataset 2). At 42d, straw mineralization was positively driven by bulk density and sand percentage and negatively by initial soil humidity, iron oxide and C and N contents. PE at 7d was positively correlated to soil Gibbsite enrichment, as well as to soil C and N content and C:N ratio, while the opposite was observed at 42d with less significant relationships.

Table 4: Partial correlation matrix between the biotic and abiotic variables,	retained to build the	2 PCA (Fig. 3), and	d
C mineralization activities registered at both incubation times (7 and 42 da	ys).		

VARIABLES	7d_BR	7d_SM	7d_PE	42d_BR	42d_SM	42d_PE
BD	-0.527	0.277	-0.404	-0.444	0.513	0.272
Sand	<u>-0.334</u>	0.309	-0.133	-0.188	0.441	0.085
Clay	0.390	-0.294	0.182	0.247	-0.384	-0.054
Gibbsite	0.487	-0.101	0.607	0.490	-0.285	<u>-0.337</u>
Soil humidity	0.528	-0.149	0.300	<u>0.377</u>	-0.675	<u>-0.372</u>
рН	-0.143	-0.487	-0.304	-0.153	-0.138	0.103
ox Fe	0.050	<u>-0.325</u>	0.260	-0.012	-0.426	-0.019
Tot C	0.821	-0.101	0.486	0.694	<u>-0.339</u>	-0.326
Tot N	0.750	-0.142	0.436	0.620	<u>-0.397</u>	-0.300
Tot P	0.423	0.049	0.254	0.392	-0.300	-0.280
Soil C:N	0.447	0.158	<u>0.332</u>	0.430	0.062	-0.175
avP	0.281	0.425	-0.055	<u>0.359</u>	<u>0.329</u>	-0.175
MBP	0.876	-0.066	<u>0.396</u>	0.831	-0.182	-0.391
MMB	0.757	-0.143	0.406	0.695	-0.405	-0.438
DNA16s	0.504	-0.122	0.163	0.461	-0.406	<u>-0.393</u>
Evenness_B	-0.456	0.150	-0.246	-0.412	-0.080	-0.059
Planctomycetes	0.173	-0.075	0.527	0.198	-0.236	-0.190
Unknown_B	-0.747	-0.142	-0.673	-0.758	0.243	0.542
Actinobacteria	-0.264	<u>0.394</u>	-0.263	-0.102	0.505	0.055
Chloroflexi	-0.672	<u>-0.399</u>	-0.457	-0.688	<u>0.385</u>	0.732
Alpha-proteobacteria	0.762	0.245	0.696	0.804	-0.203	-0.547
Acidobacteria_Gp1	0.678	0.052	0.304	0.506	-0.465	-0.415
Gamma-	0.685	0.105	0.415	0.526	-0.314	-0.309
proteobacteria						
Delta-proteobacteria	<u>0.396</u>	-0.025	0.232	0.424	<u>-0.378</u>	-0.447
Burkholderiaceae	0.685	0.174	0.230	0.618	-0.217	-0.431
Acidobacteria_Gp2	<u>0.391</u>	<u>-0.330</u>	0.446	<u>0.347</u>	<u>-0.389</u>	-0.205
Acidobacteria_Gp4	-0.594	-0.309	-0.471	-0.527	0.210	<u>0.356</u>
Firmicutes	0.036	0.549	-0.072	-0.008	-0.116	-0.273
Unclassified_Proteoba	0.498	0.034	0.657	0.662	-0.255	-0.595
cteria						
Armatimonadetes	-0.708	-0.059	-0.447	-0.587	0.088	0.170
Acidobacteria_Gp6	0.080	-0.022	0.511	0.304	-0.108	<u>-0.346</u>
Unclassified_Acidobac teria	<u>0.343</u>	-0.198	0.291	0.312	-0.586	-0.449

Soil microbial parameters correlated to one or more C mineralization activities were MMB, MBP, bacterial density (DNA 16S), bacterial evenness (Evenness\_B) and many bacterial Phyla or subphyla. Acidobacteria and Proteobacteria showed no strong relationship with respiration parameters at the phylum level, whereas certain lower phylogenetic levels did. Basal respiration was positively correlated to microbial and more precisely bacterial biomass, initial

relative gene abundance of all Proteobacteria, and Subdivisions 1 and 2 of Acidobacteria (Gp1, Gp2). Straw mineralization was positively correlated to Firmicutes and Actinobacteria at 7d and to Actinobacteria and Chloroflexi at 42d. PE at 7d was positively correlated to the same parameters as basal respiration and also to Planctomycetes and Acidobacteria-GP6. All these correlations were negative at 42d and PE was then positively correlated to Unknown bacteria, Chloroflexi and Acidobacteria-GP4 only. In contrast to bacterial parameters, no fungal parameter was strongly correlated to any C-mineralization activity.

### IV. <u>Discussion</u>

#### IV.1. Stoichiometric decomposition vs nutrient mining

Early PE intensity (7d) was strongly and positively linked to basal respiration. Both also depended on microbial biomass, soil enrichment in organic matter and its quality informed by the soil C:N ratio. According to the literature, soil basal respiration is mainly related to the decomposition of a high quality SOM pool (high C:N ratio) (Murphy *et al.*, 2015). Our results suggest that PE generated at 7d is a stimulation of this high quality SOM mineralization probably due to the extra release of enzymes by wheat straw decomposers (Fontaine *et al.*, 2003). In a study by Chen *et al.* (2014), mineral N positively drove the intensity of this process ("Stoichiometry theory").

Late PE intensity (42d) was inversely correlated to that generated at the earliest step, to basal respiration and to some soil parameters (SOM content, C:N and microbial biomass). Late PE appeared to be specific to a more stabilized SOM, and its intensity was positively linked to wheat straw mineralization.



Biplot (F1 & F2 axes: 52.71 %)

Figure 3: Biplot representation of the Principal Component Analysis (PCA) performed on the 40 biotic and abiotic variables measured on the 40 soils sampled. The correlation circle of variables was superimposed to the PCA plot. Triangles represent sampling plots; dashed grey lines represent soil abiotic variables; dashed black lines represent cilmatic variables; plain black circles represent biotic variables. Plain black lines represent carbon mineralization activities. Abbreviations: MAP: mean annual precipitation; MAT: mean annual temperature; BR: basal respiration; SM: straw mineralization; MMB: microbial molecular biomass; MBP: microbial biomass phosphorus; Acido: Acidobacteria; avP: available phosphorus; \_B: Bacteria; tot: total; BD: bulk density.

This suggests that late PE was generated by slow-growing microbes which co-metabolized wheat straw and SOM, probably mining for nutrients (Fontaine *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2014; Blagodatskaya *et al.*, 2014).

## IV.2. Microbial actors of C-mineralization processes

The F:B ratio measured in this study was low compared to other biomes (Fierer *et al.*, 2009), indicating that the functioning of carbon-depleted Ferralsols under grass savannas is mainly driven by the bacterial- rather than by the fungal-energy channel of the soil food web (Wardle, 2005). Fungi tend to be better represented and more diverse in forested soils (Johnson and Wedin, 1997; Imberger and Chiu, 2001; Fierer *et al.*, 2009).

The present study highlighted the specificity of various bacterial phylogenetic groups for the decomposition and mineralization of different types of organic matter. Wheat straw, the most easily-available form of organic matter entering the soil, appeared to be first mineralized by Firmicutes and Actinobacteria. Our results are in line with other studies that used a DNA-SIP direct approach (Bernard et al., 2012; Pascault et al., 2013). The Firmicutes are among the fastest-growing bacteria with 12 copies of the RNA operon in their genome (Klappenbach et al., 2000), but are also endowed with strong catabolic capacities like phytate hydrolyzation (Jorquera et al., 2008). Actinobacteria are known to have enzymatic activities able to depolymerize FOM, such as cellulolytic activities (de Boer et al., 2005). The late step of wheat straw mineralization still appeared related to the initial relative density of Actinobacterial genes, while Chloroflexi could also be involved. Chloroflexi are reported to have a very slow growth rate (Davis et al., 2011) and to prevail in nutrient poor soils (Janssen, 2006; Will et al., 2010; Fierer et al., 2012). Moorhead and Sinsabaugh (2006) have functionally classified microorganisms on the basis of the lability vs recalcitrance status of their respective growth substrates, with (1) opportunists feeding on small labile molecules, (2) decomposers breaking down polymerized vegetal tissues and (3) miners devoted to the humified stabilizing SOM. According to this terminology, Firmicutes and Actinobacteria could be qualified as FOM decomposers, and Chloroflexi as SOM miners.

Basal respiration was positively correlated to the initial relative density of all Proteobacteria subgroups, Planctomycetes and Acidobacteria GP1, 2 and 6. Among these phylogenetic groups,  $\beta$ - and  $\gamma$ -Proteobacteria are overall known to be fast-growing copiotrophic organisms feeding on labile organic substrates, and can be qualified as opportunists (Klappenbach *et al.*,

65

2000; Fierer et al., 2007; Eilers et al., 2010). γ-Proteobacteria were besides strongly linked to the soil gibbsite content, supposedly be associated to proteins and aminoacids (de Junet et al., 2013). Other subgroups of Proteobacteria, Planctomycetes and Acidobacteria GP1, 2 and 6 can be qualified as SOM decomposers as they are linked to the mineralization of high C:N SOM which characterizes poorly-evolved OM like decaying plant tissues. Most of them appeared to be responsible for the early PE. At the opposite, some phylogenetic groups appeared to be inversely correlated to basal respiration and therefore specific to a more stabilized SOM: Armatimonadetes, Acidobacteria-GP4, Chloroflexi and all the unknown Bacteria. Chloroflexi, Acidobacteria-GP4 and the unknown bacteria appeared to be positively linked to PE intensity at 42d. Acidobacteria-GP4 sequences are known to correlate negatively with SOM and N (Foesel et al., 2014) and their only culturable species was isolated from a semiarid savanna soil in Namibia (Foesel et al., 2013). This species is able to grow on protochatechuate, an aromatic substrate, and on other complex molecules such as chitin and cellulose. As Chloroflexi and Acidobacteria-GP4 were also positively correlated to the late step of wheat straw mineralization, they can be considered as miners which use the energy of FOM to mine humified SOM for nutrients.

These results are based on correlations between CO<sub>2</sub> release and gene relative densities in the pristine soil before incubation. We are aware that the addition of wheat straw probably initiated the growth of several populations, tending to change the biomass and the structure of the community during the incubation, which could have distorted our interpretation of results. However, we assume that such changes should be somewhat restricted. This postulate is based on several considerations. First, the wide majority of soil microbial populations are SOM-miners and therefore slow-growing populations (Ranjard and Richaume 2001). These populations are believed to contribute only to late decomposition of wheat straw (Blagodatskaya *et al.*, 2014), when large increases in biomass are not expected. At this stage straw-derived energy is thought to be invested in cell maintenance and production of extracellular enzymes for SOM mining, rather than in proliferation. In addition, SOM miners, also described as K-strategists are characterized by low copy numbers of the ribosomal operon and thus do not have the cellular capacity to proliferate, even given high availability of labile substrates (Klappenbach *et al.* 2000). At the opposite, respective biomass of fast-growing microbial populations, like opportunists or some decomposers, should be severely controlled

by protozoan grazers and nematodes in case of proliferation (Ekelund & Rønn R 1994 ; Griffiths 1994 ; Bonkowski 2000).

### IV.3. Climatic determinants of C-mineralization activities

Climate may drive biomass, structure and composition of microbial communities indirectly by shaping some key soil properties, with consequences on C-cycling activities. MAT appeared to have a stronger impact on soil biotic and abiotic variables than MAP. MAP negatively controlled the early step of FOM mineralisation mainly by its negative control on available P, and positive control on pH. As P is poorly available in Malagasy Ferralsols, it is not surprising that this nutrient could limit the first mineralization step of a carbon-rich compound. The negative correlation between available P content and MAP likely originates from the increasing P sorption by Fe and Al oxyhydroxides resulting from higher weathering rates and silica leaching (Schaefer *et al.*, 2008). Also, the decomposition of fresh and complex organic matters is carried out by extracellular enzymes whose activities strongly depend positively or negatively on pH, especially in Malagasy Ferralsols (Kedi *et al.*, 2013). And pH in highlyweathered soil tends also to increase to values close to the zero-point charge of Fe and Al oxides (between 6 and 7) (Schaefer *et al.*, 2008). At the last incubation point, wheat straw mineralisation was mainly controlled by soil texture, with higher mineralization rates in sandy soils as usually described in the literature (Saggar *et al.*, 1996; Frøseth and Bleken, 2015).

The negative control of MAT on basal respiration and early PE appeared to be linked to the amount and quality of SOM. Temperature is known to drive positively the turnover of organic matter (Davidson and Janssens, 2006), while negatively affecting grass productivity in African savannas (Gao *et al.*, 2016). Therefore, considering that MAT reduces FOM input while promoting its decomposition rate, the reduction of the high quality SOM pool in warmer regions seems coherent. This was accompanied by the reduction of the density and physiological status (MBP) of microbial communities, and by the the reduction in size of the opportunist and decomposer guilds. Conversely, late PE, thought to follow the nutrient mining theory, increased with MAT because of this high quality SOM depletion leading to the predominance of slow-growing miners. With less competition from opportunists and decomposers, miners should have more access to FOM energy for nutrient mining (Fontaine *et al.*, 2003). Basal respiration and PE (early and late), when expressed as the ratio of C-CO<sub>2</sub> to total soil carbon or to microbial molecular biomass instead of to gram of soil, did all strongly

and positively correlate to MAT (data not shown). Such a ratio of CO<sub>2</sub> evolution to soil C or microbial biomass should be inversely related to the microbial Carbon Use Efficiency (i.e. CUE: Growth/uptake - Geyer *et al.*, 2016). And CUE has been shown to decrease with a change of microbial community composition from r to K strategist dominance (Blagodatskaya *et al.*, 2014). Therefore, the positive correlation we observed between relative SOM mineralization (also PE, whatever the process implied) and MAT, should be just linked to the spatial variations of the microbial community composition.

If we transpose our observations in a context of global warming, the negative relationship between MAT and soil basal respiration could fit with the microbial thermal adaptation response observed in several warming studies (Luo *et al.*, 2001; Rustad *et al.*, 2001; Eliasson *et al.*, 2005). Moreover, our study brings new elements with the suggestion that PE generated by stoichiometric decomposition should follow the same trend of attenuation as basal respiration. Conversely, PE generated by nutrient mining should increase, because of less competition between SOM decomposers and SOM miners for FOM. Therefore, the stabilizing SOM pool may become more sensitive to C-rich residue amendment in a context of long-term temperature elevation.

#### V. Conclusion

Our observations have been synthesized in a conceptual scheme (Fig. 4), which is an adaptation of that presented by Chen *et al.* (2014). In Malagasy Ferralsols, the first steps of decomposition of a fresh plant residue seems to be controlled by edaphic parameters (available P, pH, bulk density), driving the synthesis, the activity and the diffusion of extracellular enzymes, and by the population density of specialized decomposers (Firmicutes and Actinomycetes). All these biotic and abiotic factors seem to depend partly on annual precipitations and partly on soil texture, leading to the highest FOM mineralization in sandy soils submitted to hot and dry climates. In clayey soil submitted to a colder and more humid climate, the lower efficiency of FOM decomposition should foster the accumulation of high quality SOM and support a denser community of microbial opportunists and decomposers. Mean annual temperature is also the main climatic driver of PE mechanisms through the selection of specialized populations (high quality SOM decomposers under colder climates and co-metabolizer miners under warmer climates). Therefore, colder sites, richer in high quality

SOM, promote a PE generated by the "stoichiometry theory" mechanism while warmer sites promote a PE generated by the "nutrient mining theory".



Figure 4: Conceptual scheme of the driving mechanisms of mineralization adapted from Chen et al. (2014). MAP represents mean annual precipitation, and MAT represents mean annual temperature. The microbial compartment is divided into 3 functional groups (Opportunists, Decomposers, Miners) and filled with associated phylogenetic groups. Light grey arrows represent influence of abiotic parameters; plain red arrows represent regular C fluxes transiting by the microbial Opportunist and Decomposer funnels; plain blue arrows represent regular C fluxes transiting by the microbial Miner funnel; dashed arrows represent the priming effect generated by microbial stoichiometric decomposition (in red) and microbial nutrient mining (in blue).

# Acknowledgements

The present study was funded by the French Foundation for Research on Biodiversity (FRB-AAP-SCEN-2013 II – CAMMiSolE project). The first author was awarded with a 5-month mobility research grant from Madagascar to France, funded by the Agropolis Foundation (AAP Open Science- CARIM project). We would like to thank Modeste Rakotondramanana (IRD) and Fidy Raharison (LRI) for their help with field sampling and Marie-Paule Razafimanantsoa (LRI) for her coaching during laboratory analyses.

# Transition entre chapitre II et chapitre III

L'objectif de ce travail de thèse était de comprendre comment les déterminants biotiques et abiotiques contrôlent l'équilibre entre le PE stœchiométrique et le PE généré par « nutrient mining ». Comprendre comment contrôler ces processus nous permettrait de pouvoir ensuite proposer des modes de gestions favorisant la séquestration à long terme d'une matière organique riche en nutriments. Enrichir le sol en matière organique évoluée (MOE) permettrait d'améliorer sa fertilité dans un contexte d'adaptation au changement climatique tout en contribuant à son atténuation.

Notre première étude, réalisée sur des sols ferralitiques non cultivés, nous a amenés à comprendre comment la température et la pluviométrie annuelles dirigeaient la capacité de la communauté microbienne à minéralisation les différentes MO et à générer un PE par l'un des deux mécanismes générateurs.

Plus précisément, nous avons pu observer que le PE stœchiométrique était bien positivement corrélé à la teneur en MOS peu évoluée (à fort C:N), à la biomasse microbienne et à la présence d'une guilde fonctionnelle de « décomposeurs ». A l'inverse, le PE généré par « nutrient mining » était plus spécifique d'une MOS plus évoluée, d'une biomasse microbienne moins importante et principalement dominée par des espèces à croissance lente ou spécifiques d'environnements pauvres en MO, « les mineurs ». Les deux PE semblaient donc être contrôlés par les mêmes facteurs mais dans des directions totalement opposées, ce qui confirmerait donc l'existence d'un équilibre entre les deux processus, permettant de favoriser l'un ou l'autre de façon synchrone. L'identification des communautés microbiennes a permis d'observer, que les principaux acteurs du PE, dans ces sols de savanes herbacées non perturbés, étaient bactériens plutôt que fongiques. La répartition des groupes phylogénétiques dans différents groupes fonctionnels impliqués dans les deux processus de génération du PE a constitué un des principaux aspects innovants de cette étude.

Ces deux processus générateurs de PE ont été nommés dans la littérature en rapport avec leur déterminisme vis à vis des nutriments (surtout l'azote). Toutefois, ici, les caractérisations physico-chimiques des sols n'ont pas permis d'observer, un effet de la disponibilité des nutriments N et P sur la balance entre les deux processus de génération du PE ou sur leur intensité. L'effet du N est bien décrit dans la littérature, mais nous espérions surtout pouvoir

70

Transition

appréhender l'effet du P, beaucoup plus incertain. Les sols ferralitiques sont naturellement très pauvres en N comme en P. Sans perturbation des sols, ces éléments minéraux doivent subir un très fort turnover vis à vis des communautés microbiennes qui ont évoluées avec cette carence naturelle. La prochaine étude réalisée sur des sols agricoles devrait donc nous permettre de mettre en évidence l'effet de ces déterminants.

Enfin, la distribution des sols étudiés a permis de constater que les communautés microbiennes et leurs activités de minéralisation des MOS étaient principalement impactées par la température annuelle plus que par la pluviométrie. La pluviométrie, à travers son effet sur le pH et la disponibilité en P, semblait surtout contrôler les toutes premières étapes de la décomposition du résidu frais que nous avions apporté. Toutefois, il faut rester prudent car cet effet pourrait être lié à la nature du résidu que nous avons utilisé pour générer le PE, en l'occurrence de la paille de blé. La température annuelle semblait exercer un contrôle sur la composition de la communauté microbienne des sols. Les climats plus froids d'altitude semblent favoriser l'accumulation d'une MOS jeune, par une minéralisation plus lente et une production primaire supérieure aux climats plus chauds du bas des Hauts plateaux. Cette MOS de qualité supérieure entretient une communauté de décomposeurs plus compétitive que celle des mineurs pour accéder à une nouvelle MOF qui arrive dans le sol. Dans les climats les plus froids, le PE stoechiométrique est donc favorisé comparé au PE par « nutrient mining ».

Les résultats de cette première étude sur sols non perturbés et distribués le long de 3 gradients climatiques naturels sont un prélude à la compréhension des processus de génération du PE dans les sols tropicaux mais surtout à la compréhension de la réponse, à long terme, des communautés microbiennes aux changements climatiques. En effet, si la réponse à longs termes de la respiration de base du sol à un réchauffement du climat semble suivre un processus d'atténuation, comme déjà décrit dans la littérature, un apport de carbone frais, pourrait à l'inverse avoir un plus fort pouvoir de déstockage du carbone ancien. Si l'équilibre entre les deux processus de génération du PE est contrôlé de la même manière dans les sols agricoles, les résultats de cette première étude suggèrent qu'il faudrait augmenter la fréquence des apports en MOF pour conserver ce pool de MO jeune associée à ses communautés de décomposeurs.

Dans l'étude suivante nous avons donc cherché à approfondir l'effet des déterminants proximaux, biotiques et abiotiques, sur l'équilibre entre PE stoechiométrique ou « nutrient

71

mining », et cette fois dans les sols cultivés. Pour confirmer et affiner les classements des groupes phylogénétiques microbiens dans les différentes guildes fonctionnelles, nous n'avons ciblé que les communautés bactériennes. Nous avons fait varier la qualité du substrat générateur, puisqu'elle n'avait pas été prise en compte dans l'étude précédente. Pour affiner l'effet de la qualité de la MOS sur les communautés et leurs activités nous avons utilisé la méthode de fractionnement granulométrique de la MO, et pas seulement le C:N du sol comme dans l'étude précédente. Nous avons également choisi 3 sols provenant de différentes toposéquences et ayant eu chacun un historique cultural propre. Ces sols présentaient donc des qualités de MOS très différentes ainsi que des disponibilités en N et/ou en P très contrastées.

# Chapitre III : The priming effect generated by stoichiometric decomposition and nutrient mining in cultivated tropical soils: actors and drivers

Ce chapitre est présenté sous la forme d'un article en révision à Applied Soil Ecology

Kanto Razanamalala, Rota Andrea Fanomenzana, Tantely Razafimbelo, Tiphaine Chevallier, Jean Trap, Eric Blanchart, Laetitia Bernard

# I. Introduction

Fresh organic matter (FOM) entering the soil is decomposed by a succession of heterotrophic microbial populations that have specific and complementary catabolic activities. Each organic molecule loses between 40 and 60% of its carbon content through respiration (Brookes et al., 2008). Consequently, as the decomposition process proceeds, soil organic matter (SOM) becomes richer in the nutrients N and P, as well as increasingly recalcitrant, increasing its stability and residence time. In the SOM decomposition process, microorganisms involved at each step have a life strategy adapted to their preferred substrates. Some of them feed on low molecular weight compounds (LMWC) and are very efficient at scavenging inorganic nutrients from the soil solution. Those populations, sometimes called r-strategists, copiotrophs or opportunists depending on the chosen terminology, alternate rapid growth and resting phases, depending on the availability of labile substrates (Fierer et al., 2007; Panikov, 2010). In contrast, some populations are adapted to low availability of easily assimilable compounds (oligotrophic), have slow growth rates (Kstrategists), or share specific catabolic enzymes that break down the old SOM to release nutrients (SOM miners). Finally, in between those two extremes, many populations share different catabolic capabilities and an intermediate or versatile growth rate and are therefore classified as decomposers (Moorhead and Sinsabaugh, 2006).

Initially, FOM input to soil may stimulate the mineralisation of SOM through a phenomenon called the priming effect (PE). Some authors have proposed that the PE could be generated by two different mechanisms based on the interactions between populations feeding on FOM and/or SOM (Fontaine et al., 2003). The PE could (1) be the result of an increase in extracellular enzymes released by FOM decomposers, which could simultaneously help in the breakdown of SOM, or (2) be the result of the co-metabolism of energy-rich FOM catabolites by SOM miners that are increasing SOM breakdown. In the second option, Fontaine et al. (2003) suggest a competition between decomposers and miners for FOM. In a subsequent study, the same authors have demonstrated, using cellulose as the PE-inducing substrate, that both mechanisms might coexist in the same soil (Fontaine *et al.*, 2004). Recently, other authors showed (1) that LMWC and complex organic substrates such as crop residue could generate both types of PE and (2) that the balance between the two mechanisms was driven by the nutrient content of the soil solution (Chen *et al.*, 2014).

Investigating the PE-generating process is particularly important for soil carbon sequestration and nutrient recycling since each mechanism of PE generation seems to target a different pool of SOM. "Stoichiometric decomposition" resulting from the release of extracellular enzymes by FOM decomposers helps to break down young SOM that has a structure similar to FOM, such as decaying vegetal tissues with a high C:N:P ratio (Blagodatskaya *et al.*, 2014). In contrast, "nutrient mining" targets an old SOM that is already transformed and rich in nutrients, with a long residence time. Therefore, the PE generated by "stoichiometric decomposition" should be considered a stimulation of carbon and nutrient sequestration, while that generated by "nutrient mining" should be considered a depletion of the SOM stock accompanied by a recycling of nutrients.

The scientific interest in the effect of low molecular weight compounds (LMWC) on SOM destabilization has recently intensified in the context of carbon sequestration. LMWC are the major source of carbon released by plants in the soil *via* their rhizosphere. The current increase in atmospheric CO<sub>2</sub> suggests that photosynthesis will be more intense (Ainsworth and Long, 2005), as will the subsequent soil rhizodeposition (Heimann and Reichstein, 2008). Consequently, there is a need to better understand if and under which conditions LMWC destabilize old SOM, as well as to identify the microbial actors.

In addition to LMWC, high molecular weight compounds (HMWC) such as cellulose can also destabilize SOM (Fontaine *et al.*, 2004, 2011, Guenet *et al.*, 2010, 2012; Blagodatskaya *et al.*, 2014). Conservation agriculture has been proposed as an alternative to conventional cultivation practices with the goal of increasing soil organic matter content and therefore soil fertility. Current practices are, *inter alia*, based on soil amendment with various organic matter including crop residues, which sometimes, for unknown reasons, fail to increase the soil organic carbon stock (Rumpel *et al.*, 2008). As crop residues are composed of both LMWC and HMWC, it is important to understand how both compounds generate the PE, including under which conditions and by which actors, in order to optimize agroecological practices and to shift the balance between humification and mineralization towards soil C sequestration.

This is especially important in poor, rural, tropical countries such as Madagascar, where soils are naturally nutrient-depleted and mineral fertilizers are too expensive for farmers who have no alternative other than to manage organic wastes to improve soil fertility. Our hypothesis is that soil nutrient status is not the sole key driver of the balance between "stoichiometric decomposition" and "nutrient mining". The quality of the SOM, as well as that of the inducing substrates and the composition of microbial communities, might play an important role in both PE-generating mechanisms. The objective of the present study was, therefore, to investigate the identity of the bacterial groups in Malagasy Ferralitic soils involved in each PE-generating mechanism and the effect of three types of drivers: FOM quality, SOM quality and soil nutrient status.

# II. <u>Materials and methods</u>

### II.1. Soils sampling

This study was carried out in the agricultural region of Itasy, located in the highlands of Madagascar, 30 km west of Antananarivo, which has a high altitude tropical climate with a mean annual temperature of 18.4°C and a mean annual precipitation of 1319 mm (https://fr.climate-data.org). Hillsides are subjected to a hot, rainy season from November to April and a cold, dry season from May to October. Three agricultural soils were sampled in September 2015 from plots with different histories and different toposequences to generate samples with variability in C and nutrient contents. Soils were commonly named based on their respective colours, with the red soil (south 19°01′98.8″, east 47°27′40.6″) being a Rhodic Ferralsol, the yellow soil (south 19°02′56.8″, east 47°27′27.6″) being a Ferralic Cambisol and the black soil (south 19°02′10.1″, east 47°27′45.5″) being an Umbric Ferralsol (IUSS Working Group WRB, 2014). Details on the plot histories and toposequences are presented in Appendix 1. In each plot, 5 soil cores 0-10 cm in depth and 1 m apart were sampled using a metal cylinder, pooled together and sieved (2 mm). After gravel and coarse plant debris (> 2 mm) were removed, composite samples were stored at 4°C for one week prior to further soil incubation and analysis.

# II.2. Physiochemical characterization

Soil pH (H<sub>2</sub>O) was quantified by suspending soil in water (1:5 ratio) and measuring the pH with a glass electrode and a microprocessor pH meter (Hanna Instruments, USA). Particle size distribution was determined using the Robinson pipette method (Pansu and Gautheyrou, 2007).

Soil organic carbon (SOC) was analysed using the method developed by Walkley and Black (1934). Light fraction soil organic matter (LF) and organic particle size fractions (F>200  $\mu$ m; F:

50-200  $\mu$ m; F<50  $\mu$ m) were measured following the procedure described by Gavinelli *et al.* (1995). The available nitrogen (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) content, obtained after KCl extraction, was determined by colorimetry according to the Berthelot reaction (Mulvaney, 1986) and by using an automated continuous flow analyser San<sup>++</sup> (Skalar Analytique, France). The available phosphorus (P) content was measured using an anion exchange resin (Amer *et al.*, 1955).

#### II.3. Incubation conditions

The experimental design was a 3 X 4 X 2 factorial design that had 3 replications with the following treatment factors: soil type (black, red or yellow soils), substrate quality (no amendment, glucose, rice or wheat residues) and incubation time (7 days or 42 days). Therefore, each of the three composite soil samples was used to fill four series of six 150-ml flasks with 20 g equivalent dry weight of soil. The soil water content was adjusted to 70% of the saturation threshold using sterile deionized water. After a 7-day preincubation period at 27°C, the 4 treatments were applied. Two sets of microcosms were amended with 4 mg g<sup>-1</sup> dry weight of soil containing powdered crop residue, including wheat (*Triticum aestivum* cv. Caphorn: leaves and stems) and rice (*Oryza sativa*: leaves, stems and roots) in quantities corresponding to the amount of straw applied in the field. Details of <sup>13</sup>C-crop cultivation and labelling can be found in Appendix 1. One set of microcosms was amended with glucose at a concentration of 1 mg g<sup>-1</sup> of dry soil (Sigma Aldricht), which roughly corresponds to the amount of the soluble fraction brought by each crop residue (Chen *et al.* 2014). One set was not amended, but the soil was homogenized as in the three other treatments. Characteristics of the substrates are listed in Table 1.

	Wheat residue	Rice residue	Glucose
Soluble fraction %	39.56	26.51	100
hemicellulose fraction %	27.64	32.87	0
cellulose fraction %	29.4	35.13	0
Lignine fraction %	3.4	5.49	0
Total nitrogen fraction %	9.6	5.98	0
С%	42.2	38.9	40
N%	1.68	1.6	0
C/N	25.2	24.3	
Р%	0.39	0.31	
C/N/P	108/4.3/1	125/5.16/1	
<sup>13</sup> C enrichment	7%	10%	99%

Table 1: Biochemical characterization of amended substrates

Grey box indicates Vansoest fractions which have been extrapolated from NIRS spectrum (Thuries et al. 2005)

All microcosms were incubated uncovered in the dark at 27°C for a maximum of 42 days, with the humidity adjusted with sterile water every two days. Prior to CO<sub>2</sub> analysis (0 d, 7 d and 42 d), the flasks were first flushed with fresh air and then hermetically sealed with plasma plugs, after which the CO<sub>2</sub> was allowed to accumulate for 6 hours. Gas phases were sampled for total CO<sub>2</sub> and <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> measurements. After 7 d and 42 d, 3 flasks per treatment (soil x substrate) were harvested, and soils were split into two subsamples each: one subsample was stored at 4°C for no more than 3 days prior to the measurement of NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and available P, while the other subsample was frozen at -20°C prior to DNA extraction. NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and available P were measured as previously described for pristine soils.

# II.4. CO2 and 13CO2 measurements

At 0 d (6 h after the flasks were sealed) and again after each incubation time (7 d and 42 d), the total atmospheric CO<sub>2</sub> concentration was measured in all samples by gas chromatography using a mass spectrometer (CP-4900, Varian, Middelburg, the Netherlands). A 5-ml volume of the gaseous phase of only the <sup>13</sup>C-amended microcosms was sampled in an Exetainer evacuated tube for further determination of carbon isotopic abundances (A%) using IRMS (Bernard *et al.*, 2012). Three tubes of atmospheric air, sampled when the flasks were sealed, were also analysed to enable subtraction of the natural <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> enrichment in future calculations. Basically, the <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> enrichment of the substrate and the total CO<sub>2</sub> evolved in the amended treatment were used to calculate the portion of C resulting from the substrate mineralization (SM) as follows:

SM = [(A% x total C-CO<sub>2</sub> accumulated from the substrate-amended microcosm per gram of soil per hour) – (atmospheric A% x total C-CO<sub>2</sub> accumulated from the non-amended treatment per gram of soil per hour)] /  $^{13}$ C enrichment (7%, 10% or 99% depending on the substrate, see Table 1)

Therefore, the PE was the difference between soil-derived CO<sub>2</sub> in the amended treatment and in the non-amended treatment. The PE was calculated as follows:

PE = total C-CO<sub>2</sub> accumulated in the substrate-amended microcosm (per gram of soil and per hour) - SM - total C-CO<sub>2</sub> accumulated in the non-amended microcosm (i.e., basal respiration)

# II.5. DNA extraction, quantification and molecular analyses of soil bacterial communities

DNA was extracted at each incubation period from the three soil types (in triplicate), both amended and non-amended. A dry weight equivalent of 0.25 g of soil was added to the extraction mix following the procedure developed by Tournier et al. (2015). Extracted DNA was quantified fluorometrically using the PicoGreen dsDNA Quantitation Kit (Molecular Probes, USA). Quantification of DNA extracted from the soil was used to estimate the microbial molecular biomass in each sample (Marstorp et al., 2000; Widmer et al., 2006). DNA samples were then sent to MR DNA (Shallowater, TX, USA) for 16S rDNA sequencing and bioinformatics analyses of the sequence libraries, following the procedure provided by the company. The 16S rRNA gene V4 variable region PCR primers 515/806 with barcodes on the forward primers were used in a 28-cycle PCR (5 cycles used on PCR products) using the HotStar Taq Plus Master Mix Kit (Qiagen, USA) under the following conditions: 94°C for 3 minutes, followed by 28 cycles of 94°C for 30 seconds, 53°C for 40 seconds, and 72°C for 1 minute, after which a final elongation step was performed at 72°C for 5 minutes. Successful amplification and relative band intensity of the PCR products were analysed by agarose gel electrophoresis (2% agarose gel). Multiple samples were pooled together (e.g., 100 samples) in equal proportions based on their molecular weight and DNA concentrations. Pooled samples were purified using calibrated Ampure XP beads. Then, the pooled and purified PCR products were used to prepare a library for Illumina DNA sequencing. Sequencing was performed at MR DNA on a MiSeq system following the manufacturer's guidelines. Sequence data were processed using the MR DNA analysis pipeline. In summary, sequences were combined and the barcodes were removed. Then, sequences <150 bp and sequences with ambiguous base calls were removed. Sequences were denoised, operational taxonomic units (OTUs) were generated, and chimaeras were removed. OTUs were defined by clustering at 3% divergence (97% similarity). Final OTUs were taxonomically classified using BLASTn against a curated database derived from RDPII and NCBI (<u>www.ncbi.nlm.nih.gov</u>. <u>http://rdp.cme.msu.edu</u>).

DNA sequences were deposited in the Genebanck database, under the Bioproject accession number PRJNA413029 (<u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/413029</u>).

# II.6. Statistical analyses

ANOVA was performed on substrate mineralization and induced PE data to determine how those activities are driven by the following three parameters and their two-by-two interactions: (1) the incubation time, (2) the soil type and (3) the substrate quality. Pearson correlations were calculated between soil physicochemical parameters (C contained in OM fractions measured at 0 d and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and available P measured in the control treatment), the three mineralization activities (basal respiration BR; substrate mineralization SM, and priming effect, PE) and the  $\Delta$ -nutrients for each substrate at each incubation time.  $\Delta$ -nutrients correspond to the difference between the NH<sub>4</sub><sup>+</sup> or available P content measured in the amended treatment and that measured in the control treatment. The same calculation was performed for the percentages of the main bacterial phyla and Proteobacteria subgroups and named " $\Delta$ -phyla". For each amended treatment (glucose, rice residue, and wheat residue), Pearson correlations were calculated between each substrate mineralization and substrate-induced PE with the previously obtained  $\Delta$ -Phyla.  $\Delta$ -phyla that positively correlated with the SM or PE were used in multiple regressions to rank their contribution to the SM and PE variance. Statistical analyses were performed using XLSTAT 18.6 (Addinsoft. France).

# III. <u>Results</u>

# III.1. Soil biotic and abiotic parameters

The mean values and standard deviations of all biotic and abiotic parameters measured in triplicate on each of the three soil types (named based on their colour: black, red and yellow) are presented in Table 2. The 16S rDNA analysis generated between 17,000 and 21,000 sequences per sample, and sequences affiliated with the different bacterial phyla have been expressed as percentages of total sequences obtained.

- The black soil was the richest in total organic matter, especially in the fine fractions (<50  $\mu$ m and 50-200  $\mu$ m), while its light fraction (LF) and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> were both depleted. The mean basal respiration of the black soil was the lowest, while its molecular biomass and available P were intermediate in comparison with the other two soil types. The black soil was also characterized by the highest proportion of  $\gamma$ -,  $\beta$ - and  $\delta$ -Proteobacteria, Acidobacteria, Gemmatimonadetes, Bacteroïdetes, Chlamidiae, Fusobacteria, Nitrospirae, Planctomycetes and TM7.

ABIOTIC PARAMETERS	Red soil	Yellow soil	Black soil	<b>BIOTIC PARAMETERS</b>	Red soil	Yellow soil	Black soil
Latitude (Sud)	19° 01′ 98.8″	19° 02′ 56.8″	19° 02′ 10.1″	Mean Basal Respiration	0.86 ± 0.07	0.91 ± 0.15	0.39 ± 0.08
	170 071 10 6"					<b>5</b> 4 4 × 0 00	4.40 - 0.00
Longitude (Est)	47°27′40.6″	47° 27' 27.6″	47° 27′ 45.5″	Molecular Biomass (µg ADN.g <sup>-1</sup> soil)	2.68 ± 0.08	5.44 ± 0.08	$4.12 \pm 0.08$
Toposequences	summit	backslope	footslope	Bacterial phyla composition	(% of total see	quences)	
рН	5.51 ± 0.01	$4.85 \pm 0.01$	$4.72 \pm 0.01$	lpha-proteobacteria	22.57 ± 2.04	26.98 ± 0.48	17.26 ± 0.76
Granulometry (%)				eta-proteobacteria	2.63 ± 0.19	2.16 ± 0.12	8.65 ± 0.44
Clays	47.76 ± 1.31	47.32 ± 5.24	42.39 ± 1.47	$\delta$ -proteobacteria	$1.64 \pm 0.11$	$1.71 \pm 0.05$	3.65 ± 0.23
Fine silts	16.87 ± 1.30	16.79 ± 4.60	23.21 ± 0.75	γ-proteobacteria	$1.13 \pm 0.02$	$0.88 \pm 0.08$	2.98 ± 0.50
Coarse silts	8.93 ± 0.40	5.42 ± 0.35	8.65 ± 0.89	Actinobacteria	16.53 ± 0.77	22.05 ± 1.62	11.90 ± 0.63
Fine sands	10.59 ± 0.52	7.68 ± 0.34	9.25 ± 0.62	Acidobacteria	10.86 ± 0.68	12.15 ± 2.92	21.15 ± 0.12
Coarse sands	15.83 ± 0.35	22.82 ± 0.13	16.49 ± 0.32	Chloroflexi	16.90 ± 0.79	14.89 ± 1.84	11.79 ± 0.43
				Verrucomicrobia	11.38 ± 1.58	5.72 ± 1.59	3.65 ± 0.19
WSC (g.kg <sup>-1</sup> soil)	535 ± 21	494 ± 7	431 ± 13	Firmicutes	8.55 ± 1.05	6.45 ± 0.59	7.95 ± 0.49
<b>NH</b> ₄ <sup>+</sup> (mg.kg <sup>-1</sup> soil)	2.51 ± 0.39	2.33 ± 0.15	$1.58 \pm 0.25$	Gemmatimonadetes	$2.40 \pm 0.30$	2.47 ± 0.43	$3.66 \pm 0.16$
Available P (mg.kg <sup>-1</sup> soil)	$0.44\pm0.03$	$\textbf{1.75} \pm \textbf{0.71}$	$1.01 \pm 0.04$	Planctomycetes	3.50 ± 1.13	3.79 ± 0.42	4.23 ± 0.81
				Bacteroidetes	$1.31 \pm 0.37$	$0.33 \pm 0.15$	$1.42 \pm 0.44$
Organic c (g.kg <sup>-1</sup> soil)	18.85 ± 0.705	24.82 ± 0.36	34.51 ± 1.71	Fusobacteria	$0.08 \pm 0.02$	$0.14 \pm 0.04$	$0.49 \pm 0.08$
OMGF (gC.kg <sup>-1</sup> soil)				Cyanobacteria	$0.331 \pm 0.05$	$0.062 \pm 0.04$	$0.085 \pm 0.01$
LF	1.29 ± 0.30	$1.12 \pm 0.02$	$0.50 \pm 0.04$	Nitrospirae	$0.114 \pm 0.02$	$0.136 \pm 0.02$	$0.723 \pm 0.03$
F>200	0.06 ± 0.002	$0.08 \pm 0.01$	$0.04 \pm 0.04$	Cand. saccharibacteria	$0.029 \pm 0.01$	$0.034 \pm 0.01$	0.043 ± 0.02
F :50-200	1.09 ± 0.17	1.541 ± 0.06	2.03 ± 0.96	Chlamydiae	0.027 ± 0.00	$0.011 \pm 0.01$	$0.247 \pm 0.06$
F<50	13.68 ± 0.50	20.04 ± 0.27	28.13 ± 0.59	∑phyla	99.990	99.975	99.903

Table 2: Biotic and abiotic characterization of the three studied soils

Abbreviations: WSC: Water saturation capacity; OMGF: Organic matter granulometric fractions; LF: Light fractions

- The red soil was the richest in NH4<sup>+</sup> and LF, with the highest basal respiration and the highest pH. However, the red soil was the poorest in available P and total organic matter, especially in the finest fractions. With the lowest microbial molecular biomass (DNA amount), the red soil was characterized by the highest proportions in Chloroflexi, Cyanobacteria and Verrucomicrobia.
- The yellow soil was the richest in available P and exhibited the highest basal respiration and largest microbial molecular biomass. The organic matter content of the yellow soil was intermediate between the red soil and the black soil, although the OM fraction > 200  $\mu$ m of the yellow soil was the richest of the three soil types. With regards to the bacterial community composition, the yellow soil was similar to the red soil, but with higher proportions of  $\alpha$ -Proteobacteria, Actinobacteria and TM7, and lower proportions of Firmicutes, Bacteroidetes, Verrucomicrobia and Chloroflexi.

Several phyla showed strong positive linear regressions with a particular SOM fraction (Fig. A1): Chloroflexi and Verrucomicrobia with LR (R<sup>2</sup>= 0.96 and 0.88, respectively),  $\alpha$ -Proteobacteria and Actinobacteria with OM > 200  $\mu$ m (R<sup>2</sup>= 0.99 for both), *Candidatus saccharibacteria* with OM = 50-200  $\mu$ m (R<sup>2</sup>= 0.99); and Planctomycetes (R<sup>2</sup>= 0.99), Acidobacteria (R<sup>2</sup>= 0.88), Gemmatimonadetes (R<sup>2</sup>= 0.84), and Fusobacteria (R<sup>2</sup>= 0.90) with OM < 50  $\mu$ m. The  $\gamma$ -,  $\beta$ - and  $\delta$ -Proteobacteria and the Firmicutes were not correlated with any SOM fraction.

# III.2. Effect of soil type, substrate quality and incubation time on substrate mineralization (SM), PE and nutrient recycling

Substrate mineralization (SM), PE and  $\Delta$ -nutrients as functions of soil type, substrate quality and incubation time, are presented in Figure 1. Wheat and rice residues showed higher mineralization rates than glucose, and all mineralization rates were higher at the beginning of the incubation than at the end (Fig. 1A). The soil type had little effect on substrate mineralization, but it influenced the PE and  $\Delta$ -nutrients (Fig. 1B, 1C, 1D). More specifically, the PE and  $\Delta$ -nutrients appeared to result from the interaction between both variables (soil type x substrate quality). For example, at 7 d, PE was maximized in the yellow, black and red soils when induced by the wheat, the glucose and the rice, respectively. Amendment of the soil with glucose mostly resulted in negative  $\Delta$ -nutrients, while amendment of the soil with crop residues resulted in positive  $\Delta$ -nutrients. Amendment of the soil with rice consistently

led to the largest amount of  $\Delta$ -available P in every soil type and at both incubation times, while the amount of  $\Delta$ -N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> depended on the soil, the substrate and the incubation time.



Figure 1: (A) Mean substrate mineralization and (B) PE rates (mg C-CO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> Kg soil<sup>-1</sup>), (C) Delta-N-NH4<sup>+</sup> and (D) Delta-available P (mg Kg<sup>-1</sup> soil), registered on the three sol types (black, red and yellow) amended with three substrates (Glucose, rice and wheat) and after two incubation times (7 days and 42 days). "Delta" means differences between the substrate amended and the control treatment. Significant differences are indicated by letters (Tukey's post-hoc test, p.values < 0.05).

# III.3. Relationships between soil characteristics, C mineralization activities and nutrient cycling

The basal respiration of the 3 soil types correlated positively with the coarse (>200  $\mu$ m) and light organic fractions and correlated negatively with the two finest SOM fractions (Table 3). Basal respiration was also positively correlated with available P and especially with mineral N. Glucose mineralization showed a similar pattern of correlation to that of basal respiration, except that glucose mineralization was more closely correlated with the light SOM fraction and the NH<sub>4</sub><sup>+</sup> concentration. In contrast, the PE generated by the glucose soil amendment was

#### Chapitre III : Stoichiometric decomposition and nutrient mining

Table 5 : Partial Correlation matrix (Pearson (n)) between carbon cycling activities and soil parameters at 0 days or at different incubation time (7 and 42 days) in function of the amended substrate. BR: Basal Respiration. GM: Glucose Mineralization. RM: Rice Mineralization. WM: Wheat Mineralization. PE: Priming Effect. LF: Light Fraction of organic matter. OM-F<50: Carbon content of the organic matter size fraction below 50 μm. avP control: available phosphorus in the control treatment; N-NH4 control: ammonium nitrogen in the control treatment; Δvariable: difference between the substrate amended and the control treatment.

Glucose treat	ment								
Variables	LF	OM>200	OM:50-200	OM<50	avP control7	N-NH4 Control7	BR7	GM7	PE7
BR7	0.792	0.941	-0.708	-0.733	<u>0.387</u>	0.630	1	0.574	-0.001
GM7	0.781	<u>0.399</u>	-0.784	-0.784	-0.241	0.714	0.574	1	-0.475
PE7	<u>-0.473</u>	0.293	0.562	0.538	0.793	-0.560	-0.001	<u>-0.475</u>	1
Δ-N-NH4 7	-0.862	-0.167	0.910	0.898	0.584	-0.940	<u>-0.443</u>	-0.689	0.694
Δ-avP 7	0.317	-0.347	<u>-0.401</u>	-0.378	-0.779	0.353	-0.115	<u>0.386</u>	-0.500
Variables	LF	OM>200	OM:50-200	OM-F<50	avP control42	N-NH4 Control42	BR42	GM42	PE42
BR42	0.956	0.785	-0.911	-0.926	0.093	0.250	1	-0.096	<u>0.406</u>
GM42	-0.153	0.056	0.175	0.169	0.202	-0.176	-0.096	1	-0.627
PE42	0.303	0.605	-0.231	-0.252	<u>0.458</u>	-0.195	<u>0.406</u>	-0.627	1
Δ-N-NH4 42	0.133	0.697	-0.030	-0.059	0.786	-0.752	0.335	0.344	0.348
Δ-avP 42	-0.081	-0.617	-0.012	0.014	-0.754	0.654	-0.269	-0.217	-0.237
Rice treatme	nt								
Variables	LF	OM>200	OM:50-200	OM-F<50	avP control7	N-NH4 Control7	BR7	RM7	PE7
BR7	0.792	0.941	-0.708	-0.733	<u>0.387</u>	0.630	1	0.736	0.570
RM7	0.934	0.546	-0.926	-0.930	-0.207	0.840	0.736	1	0.728
PE7	0.823	0.449	-0.822	-0.824	-0.207	0.721	0.570	0.728	1
Δ-N-NH4 7	0.257	-0.564	-0.372	-0.340	-0.917	0.269	-0.325	0.284	0.259
Δ-avP 7	-0.558	0.290	0.654	0.628	0.828	-0.643	0.016	-0.508	-0.588
Variables	LF	OM>200	OM:50-200	OM-F<50	avP control42	N-NH4 Control42	BR42	RM42	PE42
BR42	0.956	0.785	-0.911	-0.733	0.093	0.250	1	0.920	0.533
RM42	0.980	0.526	-0.980	-0.982	-0.238	<u>0.464</u>	0.920	1	0.806

PE42	0.730	0.021	-0.791	-0.775	-0.621	0.619	0.533	0.806	1
Δ-N-NH4 42	-0.823	-0.319	0.843	0.839	0.368	-0.589	-0.731	-0.890	-0.784
Δ-avP 42	-0.650	0.020	0.710	0.695	0.531	-0.376	<u>-0.484</u>	-0.696	-0.770
Wheat treatment									
Variables	LF	OM>200	OM:50-200	OM-F<50	avP control7	N-NH4 Control7	BR7	WM7	PE7
BR7	0.792	0.941	-0.708	-0.733	<u>0.387</u>	0.630	1	0.250	0.686
WM7	-0.275	<u>0.482</u>	0.378	0.350	0.827	-0.377	0.250	1	0.116
PE7	<u>0.465</u>	0.756	-0.382	<u>-0.406</u>	<u>0.483</u>	0.305	0.686	0.116	1
Δ-N-NH4 7	-0.869	-0.172	0.917	0.905	0.590	-0.893	<u>-0.445</u>	0.603	-0.243
Δ-avP 7	-0.279	<u>0.473</u>	<u>0.381</u>	0.353	0.776	<u>-0.404</u>	0.255	0.684	<u>0.436</u>
Variables	LF	OM>200	OM:50-200	OM-F<50	avP control42	N-NH4 Control42	BR42	WM42	PE42
BR42	0.956	0.785	-0.911	-0.733	0.093	0.250	1	0.708	0.823
WM42	0.869	0.152	-0.920	-0.908	-0.589	0.648	0.708	1	0.846
PE42	0.913	0.465	-0.917	-0.918	-0.251	<u>0.446</u>	0.823	0.846	1
Δ-N-NH4 42	0.524	0.363	-0.510	-0.515	0.176	-0.196	-0.785	-0.795	-0.799
Δ-avP 42	-0.852	<u>-0.418</u>	0.858	0.858	0.034	-0.131	0.518	<u>0.392</u>	0.296

Values in bold are different from 0 with a significance level alpha=0.01. and underlined values with a level alpha=0.05

positively correlated with the finest OM fractions and available P and was negatively correlated with the NH<sub>4</sub><sup>+</sup> concentration of the control soil.  $\underline{\Delta}$ -NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (differences between substrate treatments and control) was negatively correlated with glucose mineralization and positively correlated with the PE at 7 d, while  $\Delta$ -available P was negatively correlated with the glucose-induced PE. No significant correlations of  $\Delta$ -nutrients with glucose mineralization or the PE were found at 42 d.

Rice mineralization (RM) followed the same pattern as basal respiration at both incubation times, except that RM was slightly negatively correlated with available P. The rice-induced PE did have a strong positive correlation with RM and therefore followed the same trend. Both mineralization activities negatively correlated with  $\Delta$ -available P at both incubation times, while they only correlated with  $\Delta$ -NH<sub>4</sub><sup>+</sup> at 42 d.

At 7 d, wheat mineralization (WM) did not correlate with basal respiration as RM did. Correlations with SOM fractions were mostly nonsignificant, and WM had a strong positive correlation with available P and  $\Delta$ -nutrients. The wheat-induced PE did not correlate with WM, although it did correlate positively with basal respiration. Compared to the rice-induced PE, the wheat-induced PE showed weaker correlations with the different SOM fractions with the exception of the OM fraction > 200  $\mu$ m. Moreover, the wheat-induced PE also positively correlated with available P and  $\Delta$ -available P, although to a lesser extent than WM did. At the longest incubation period, WM and its induced PE were more strongly positively correlated with each other and with BR. WM and the PE were strongly negatively correlated with  $\Delta$ -NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

### III.4. Implication of bacterial phyla in substrate mineralization and the PE

Pearson correlations between bacterial  $\Delta$ -phyla, substrate mineralizations and the PE are presented in Table A2. Only positive correlations between  $\Delta$ -Phyla and SM and/or the PE were used in a subsequent multiple regression analysis. Figure 2 shows the percentages of SM or PE variance explained by each  $\Delta$ -phyla. Bacteroïdetes showed limited influence on the variance of any SM or induced PE. All other phyla contributed to the variance in the mineralization of one or more substrates and the substrate-induced PE at different levels and times depending on the applied treatment. The  $\gamma$ -Proteobacteria drove glucose and rice mineralization, as well as the rice-induced PE, at 7 d. The  $\beta$ -Proteobacteria were involved in the glucose-induced PE at 7 d and in wheat mineralization and PE at 42 d.



Figure 2: Variance partitioning, at each incubation time, of substrate mineralization and Priming Effect between the Delta-bacterial phylogenetic groups (phyla and Proteobacteria subgroups) positively correlated (Pearson correlation) to each of both previously cited activities. "Delta" means the difference between the relative gene abundance of each phylogenetic group in the amended treatment compared to the control one. A: Glucose amended treatment; B: Rice residue amended treatment; C: Wheat residue amended treatment. The  $\delta$ -Proteobacteria mainly drove the mineralization and induced PE in wheat and rice residue treatments, but only at 42 d. Acidobacteria and Chloroflexi were involved in all substrate mineralizations and the PE variance, but at different times depending on the type of substrate. Verrucomicrobia drove glucose mineralization and the PE at the longest incubation period (42 d), but they drove wheat mineralization and the wheat-induced PE at the earliest incubation period (7 d). Firmicutes are mainly involved in glucose and rice residue mineralization and the induced PE at 7 days. Finally, Gemmatimonadetes drove the wheat-induced PE at both incubation periods, especially at 7 d, but they only drove wheat mineralization at 42 d.

#### IV. Discussion

In the present study, glucose mineralization was positively correlated with NH<sub>4</sub><sup>+</sup> content. Conversely, the PE generated by the glucose soil amendment was negatively correlated with NH<sub>4</sub><sup>+</sup> content but positively correlated with available P,  $\Delta$ - NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and the finest fractions of SOM. Glucose mineralization appeared to be mainly driven by  $\gamma$ -Proteobacteria, while the PE intensity was driven by  $\beta$ -Proteobacteria, Firmicutes and Actinobacteria after 7 days and partly by Acidobacteria and Planctomycetes after 42 days of incubation. Rice residue mineralization was also positively correlated with soil NH<sub>4</sub><sup>+</sup> content at 7 d. The PE induced by rice residue was negatively correlated with  $\Delta$ - NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and the light SOM fraction (LF). Wheat residue mineralization was no correlation with the PE at that time. Wheat mineralization appeared to be mainly driven by Chloroflexi, Verrucomicrobia and  $\alpha$ -Proteobacteria, while the PE was driven by  $\delta$ -Proteobacteria and Gemmatimonadetes. At 42 d, wheat-induced PE followed the same trend as rice-induced PE (i.e., positive correlation with their respective substrate mineralization), the soil basal respiration and the soil N availability, which implies the involvement of the same phylogenetic groups.

### IV.1. Glucose-induced PE generation mechanisms

In the present study, we amended with <sup>13</sup>C-Glucose 3 Ferralitic soils from the Madagascar Highlands with different agricultural histories and from different toposequences. Soils were characterized by different levels of available N and P enrichment, different amounts of total organic carbon, and 4 different organic matter size fractions. As other studies have shown that the C:N and the turnover of the different organic matter granulometric fractions decrease as the fractions become finer (Feller and Beare, 1997; Razafimbelo *et al.*, 2006; Kirkby *et al.*, 2014), we considered this measure to be an indicator of SOM quality.

Another study demonstrated that LMWC applied at concentrations similar to those used in this study usually generate an "apparent PE" during the first 4 days of the kinetics (Chowdhury *et al.*, 2014). An "apparent PE" corresponds to the activation of r-strategist turnover but not to SOM mineralization (Blagodatskaya *et al.*, 2007). Therefore, the PE we measured after 7 days of incubation was likely to be real, although we missed the peak of glucose mineralization, which usually occurs during the first few days after glucose addition (Blagodatskaya *et al.*, 2007).

Many studies have shown that positive PE generated by LMWC were lower under naturally N-rich conditions than under N-depleted conditions (Dijkstra *et al.*, 2013; Sullivan and Hart, 2013; Thomson *et al.*, 2013) or that the PE decreased after the addition of N, which is a behaviour that characterizes the N-mining process (Milcu *et al.*, 2011; Spohn *et al.*, 2013; Chowdhury *et al.*, 2014; Murphy *et al.*, 2015). Our results agreed with those already in the literature, as glucose mineralization was strongly limited by the concentration of NH<sub>4</sub><sup>+</sup> for the 3 soil types while the PE generated by the glucose supply was maximized in the most NH<sub>4</sub><sup>+</sup> depleted soils. Moreover, the PE was positively correlated with the finest fractions of SOM, which shoul have the lowest C:N ratio (Razafimbelo *et al.*, 2006), and the PE appeared to remobilize some NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. However, glucose may have induced a PE via stoichiometric decomposition prior to the end of the 7 days incubation period, probably before exhaustion of the available N, as already reported by Derrien *et al.* (2014) and Blagodatskaya *et al.* (2014).

Interestingly, the glucose-induced PE, generated by N mining, was stoichiometrically limited by P. Different studies have tested the effect of P on the PE, but no study has succeeded in revealing any P-mining process (Bradford *et al.*, 2008; Milcu *et al.*, 2011; Dijkstra *et al.*, 2013; Sullivan and Hart, 2013; Nottingham *et al.*, 2015). Sullivan and Hart (2013) suggested that their tested soils were not strongly P-limited and that future studies should focus on tropical soils. Our results, therefore, confirm that even in strongly P-limited tropical soils, such as Ferralitic soils from the Malagasy Highlands, glucose energy content appeared to be used exclusively to mine SOM for N and not for P. However, as observed in this study, several other experiments have found that an N-mining PE was stimulated by P availability
(Bradford *et al.*, 2008; Milcu *et al.*, 2011). Bradford *et al.* (2008) proposed that N-mining microorganisms need P to decompose recalcitrant SOM to produce P-rich specific enzymes or cofactors (ATP, NADPH). This does not exclude the possibility, as suggested in the literature, that N-mining populations use available P and subsequently are able to desorb P from the mineral phase or cleave P from ester bonds (phosphatase) without releasing any C simultaneously (Dijkstra *et al.*, 2013).

The balance between the PE generated by stoichiometric decomposition and that generated by nutrient mining is thought to be the result of a competition between r- and Kstrategist microbial populations that is driven by the soil N availability (Chen et al., 2014; Derrien et al., 2014). Stoichiometric decomposition is believed to be generated by rstrategists, while K-strategists engage in nutrient mining. In the present study, the PE at 7 d was likely generated by nutrient mining. However, the bacterial phyla stimulated by the addition of glucose that best explained the variance in the PE at 7 d behave more like rstrategists than K-strategists (Fig. 2). While glucose mineralization was mainly attributed to the differential growth of the well-known opportunists  $\gamma$ -Proteobacteria, the PE intensity at 7 d could be mainly attributed to the growth of  $\beta$ -Proteobacteria, Firmicutes and Actinobacteria. β-Proteobacteria and Firmicutes are also considered copiotrophic r-strategist organisms (Fierer et al., 2007), while Actinobacteria are known for their cellulolytic capacities (de Boer *et al.*, 2005).  $\beta$ -Proteobacteria, Firmicutes and Actinobacteria could have grown in a younger SOM pool during a preceding stage of stoichiometric decomposition. As nutrient mining is supposed to correspond to the activity of slow-growing populations, 7 d could have been too early to correlate such activities with the growth of those specialized populations. The PE at 42 d was partly explained by the growth of Acidobacteria and Planctomycetes, which are described as K-selected populations (Fierer et al., 2007). The PE at 42 d appeared to be correlated with the SOM fraction > 200  $\mu$ m and to be driven by the dynamics of populations associated with the pristine soil light fraction or coarse SOM fraction (> 200  $\mu$ m), such as Verrucomicrobia and  $\alpha$ -Proteobacteria. It seems, therefore, that the remobilization of nutrients during the mining stage again led to stimulation of decomposition in a less protected SOM pool.

#### IV.2. Mechanisms generating a crop residue induced PE

In this study, we amended the three soil types with two crop residues (rice and wheat) that mainly differed in their respective proportion of soluble and lignocellulosic fractions. The mineralization rate of the crop residues was more important at 7 d than at 42 d, and both crop residues showed similar mean mineralization rates over both incubation times. In contrast to the results of other studies, this experiment demonstrated that soil quality effects crop mineralization, as well the induced PE (Bell *et al.*, 2003).

As already described for glucose, rice residue mineralization was strongly limited by soil NH<sub>4</sub><sup>+</sup> content at 7 d, and its mineralization led to a decrease in soil NH<sub>4</sub><sup>+</sup> content compared to the non-amended control. In contrast to the effects of glucose amendment, the rice-induced PE was strongly positively correlated with rice mineralization and consequently driven by the same N-limitation. Both mineralization activities were also strongly positively correlated with the light SOM fraction. All these observations suggest that rice residues, which were richer in lignocellulose than wheat residues, primarily induced a PE through stoichiometric decomposition. The rice residue amendment should have stimulated the liberation of extracellular enzymes that depolymerize rice tissues, leading to a non-targeted hydrolysis of SOM and partly decayed plant materials (Blagodatskaya et al., 2014). Those enzymes could have been released by the Firmicutes (as in Pascault et al., 2013), Verrucomicrobia, Chloroflexi (as their initial relative density was associated with the light SOM fraction) and Acidobacteria. The resulting FOM and SOM monomers could have benefited these populations and been used commensally by well-known opportunists, the  $\gamma$ -Proteobacteria. The rice-mediated PE seems to follow the same pattern at 42 d, with higher consumption of available N and P compared to the control, and with no real evidence of a concurrent PE generated by nutrient mining. Our results agree with the study performed by Kirkby et al. (2014), which found that C sequestration in the finest OM fractions is limited by nutrient availability.

In contrast to the results obtained in the rice and glucose treatments, wheat residue mineralization at 7 d appeared to be controlled by P availability instead of N. The PE did not correlate with the mineralization of wheat residue, while it did with glucose mineralization (negative correlation) and rice residue mineralization (positive correlation). Wheat mineralization appeared to be mainly driven by Chloroflexi, Verrucomicrobia and  $\alpha$ -Proteobacteria, while the PE was driven by  $\delta$ -Proteobacteria and Gemmatimonadetes. Since

91

wheat contained a higher fraction of LMWC than rice, we suggest that the PE at 7 d could have been generated simultaneously by LMWC-induced nutrient mining and stoichiometric decomposition of polymerized compounds. Therefore, wheat residues should have been decomposed by populations specific to the light SOM fraction and SOM >200  $\mu$ m (Chloroflexi, Verrucomicrobia and  $\alpha$ -Proteobacteria), with the resulting increase in extracellular enzymes leading to an extra-mineralization of the least decomposed SOM.

The Gemmatimonadetes which already demonstrated K-strategist behaviour (DeBruyn et al., 2011) can therefore be considered as SOM-miners. The Gemmatinonadetes might have used the energy of catabolites resulting from the decomposition of the FOM or the light fraction of SOM to mine old SOM for N. The role of  $\delta$ -Proteobacteria is difficult to determine, as they were not linked to a precise SOM fraction. However, since Proteobacteria are likely more r- than K-strategists, we believe that they contributed to the PE generated by stoichiometric decomposition. In this study, we did not analyse the fungal community composition, but fungi could have also been involved in both PE mechanisms, as already shown in other studies (Bell et al., 2003; Fontaine et al., 2011; Blagodatskaya et al., 2014). However, a previous study on Ferralitic soils of the Malagasy Highlands has shown that neither straw mineralization nor either type of PE could be explained by fungal populations (Razanamalala et al., in press). At 42 d, wheat-induced PE followed the same trend as riceinduced PE, i.e., positive correlation with their respective substrate mineralization, the soil basal respiration, and the soil N availability, which implies action by the same phylogenetic groups in both treatments. This suggests a PE that is generated by stoichiometric decomposition.

#### V. <u>Conclusion</u>

The PE in soil is generated either by stoichiometric decomposition or by nutrient mining, with each mechanism contributing to the fate of soil organic matter in opposite directions leading either to its stabilization or its remobilization. This study has shown that both mechanisms are driven by the interaction between soil environmental conditions and the quality of the inducing substrate, probably through the microbial populations that are selected and activated (Fig. 3).

92



Figure 3: Conceptual scheme of the driving mechanisms of mineralization adapted from Chen et al. (2014). HMWC and LMWC represent High and Low molecular weight compounds of Fresh organic matter. The microbial compartment is divided into 3 functional groups (Opportunists, Decomposers, Miners) and filled with associated phylogenetic groups. Plain arrows represent PE C fluxes transiting by the microbial Opportunist and Decomposer funnels; dashed arrows represent the PE generated by microbial nutrient mining.

While LMWC appeared to preferentially generate a PE through nutrient mining, polymerized compounds appeared to foster the PE by stoichiometric decomposition. Regarding the soil, SOM quality drove the density of bacterial populations implicated in each mechanism, and the nutrient availability triggered the activity of those populations. An enrichment by decaying plant tissues (light fractions and SOM >200  $\mu$ m) fostered the decomposers guild, such as Verrucomicrobia,  $\alpha$ -Proteobacteria and Actinomycetes, which can outcompete SOM-miners in terms of the decomposition of the new FOM supply, provided that N is not limiting. The new FOM led to the generation of a PE through stoichiometric decomposers, is reduced or when the conditions are strongly N-limiting, the new FOM supply is preferentially used by SOM-miners to retrieve N from low-quality SOM, provided that P is still available. Therefore, each new FOM supply in a soil that is regularly supplied with FOM and N would increase the decomposition of the already present decaying SOM. In contrast,

soils no longer supplied with FOM and N, whether they are rich or poor in total carbon content, are more subject to a PE by N mining and to the loss of C from the nearly stabilized SOM. The effect of FOM input frequency and the ratio of N to P on SOM stabilization needs to be investigated in the future as a way to increase C sequestration in agricultural soils.

#### Acknowledgement

The present study was partly funded by the French Foundation for Research on Biodiversity (FRB- AAP-SCEN-2013 II – CAMMiSolE project) and the IFS allocation programme obtained by the first author (IFS GRANT C5876).

We would like to thank the NGO AgriSud International for introducing the group to Mrs. Josephine Razanatsara, the farmer who allowed us to sample soils in her cultivated plots. We are very grateful to Josephine for her hospitality and her strong desire to contribute to the present study. Travel to sampling area was made possible by the local IRD facilities. We would like to thank the LRI staff for their technical help in laboratory measurements and Pascal Tillard (BPMP, INRA, Montpellier, Fr) for the 13CO2 analyses by IRMS.

## Transition entre chapitre III et chapitre IV

L'objectif de notre deuxième étude était d'identifier, dans des Ferralsols cultivés, les déterminants et les acteurs bactériens impliqués dans les PE stœchiométrique et par « nutrient mining ».

Dans les sols agricoles d'Itasy, comme dans les sols pseudo-naturels de la première étude, nous avons observé un PE stœchiométrique et un PE par « nutrient mining et identifier les guildes fonctionnelles impliqué dans leurs générations. Ces deux processus de génération du PE étaient contrôlés par l'interaction du type de sol et la qualité de la MOF utilisée pour les générer. La part de la MOF constituée de composés à faible poids moléculaire générait préférentiellement un PE par « nutrient mining » alors que la part constituée de composés à haut poids moléculaire générait un PE stœchiométrique. Les acteurs du PE étaient, quant à eux, déterminés par le type de sol. La qualité de la MOS dirigeait, de la même façon que dans les sols non perturbés de savanes, la densité des guildes fonctionnelles impliquées dans le PE. Un sol enrichi en MO peu évoluée favorisait la guilde des décomposeurs, alors qu'un sol enrichi en MO évoluée favorisait la guide des mineurs. ». Cependant, la composition en phyla bactériens des guildes fonctionnelles n'étaient pas totalement identiques à celles observées dans la première étude.

La disponibilité en nutriments avait également un effet important sur la génération du PE. Elle permettait de déclencher, ou d'inhiber, l'activité des guildes fonctionnelles. Ainsi, lorsque l'azote et le phosphore n'était pas limitant dans les sols, le résidu apporté était préférentiellement impliqué dans la génération d'un PE stoechiométrique. Lorsque l'azote était fortement limitant, le résidu apporté était préférentiellement utilisé par les mineurs pour générer un PE par « N mining ». Et ce PE était lui-même limité par la disponibilité en P, confirmant que les mineurs ne vont pas chercher du P dans la MOE, mais ont besoin de P disponible pour aller chercher du N, probablement car ce processus requiert de l'ATP.

Les résultats de cette étude sur sols agricoles ont également permis d'identifier les déterminants et les acteurs bactériens du PE dans les sols cultivés. Elle fournit ainsi, avec la première étude, les bases scientifiques pour l'élaboration de chemins techniques permettant de diriger le PE. En effet, connaitre les processus de génération de PE permettrait, dans les zones rurales de Madagascar, d'élaborer des chemins techniques permettant de favoriser la

Transition

séquestration de la MO sur le long terme mais également sa minéralisation aux moments clé des cultures (tallage, montaison, floraison, développement des graines/fruits, etc).

L'agriculture dans la région Itasy tournant autour de la gestion des MO produites par les exploitations, favoriser le PE stœchiométrique, après l'apport des MO, permettrait un meilleur stockage de la MO apportée à la parcelle et ainsi une réduction des émissions de C liée à l'agriculture. De plus, la région étant soumise à un climat tempéré d'altitude, les conditions climatiques favoriseraient la biomasse et l'activité des acteurs du PE stœchiométrique dans les sols si l'on se réfère aux résultats de notre première étude.

Ainsi, l'objectif de notre dernière étude était de définir comment l'usage des terres et les pratiques agricoles influençaient le PE stœchiométrique conduisant à la séquestration de la MO dans les sols agricoles. Cela permettrait, à terme, d'optimiser l'utilisation des MO produites dans les différentes exploitations. Pour cela, nous sommes restés dans la région Itasy, où il existe un réseau d'exploitants agricoles, ayant adhéré au projet de développement de l'ONG Agrisud international. Agrisud leur prodigue des conseils en terme développement des pratiques agricoles agroécologiques, notamment autour de l'introduction d'arbres les cultures vivrières ou les zones de bozaka (savane), et le compostage des matières organiques. Nous avons donc échantillonné des parcelles agricoles soumises à de l'agriculture vivrière, de l'agroforesterie ou de la foresterie et soumises à des pratiques conventionnelles régionales ou agroécologiques. Il a déjà été montré que les champignons ont un rôle plus important dans les systèmes agroécologiques dû à la diversité des MO apportées. Nous avons donc décidé d'étudier à nouveau la composition des communautés bactériennes et fongiques des sols cultivés.

Chapitre IV: Land use and agricultural practices drive C-mineralization activities through bacterial biomass and key fungal families in Madagascar Highlands.

Ce chapitre est présenté sous la forme d'un article prochainement soumis à Biology and Fertlity of soil

Kanto Razanamalala, Tantely Razafimbelo, Pierre-Alain Maron, Lionel Ranjard, Nicolas Chemidlin, Samuel Dequiedt, Thierry Becquer, Jean Trap, Eric Blanchart & Laetitia Bernard

#### I. Introduction

CO<sub>2</sub> emissions leading to climate change could be mitigated by a 0.4% augmentation of C sequestration per year (Paustian *et al.* 2016). This C sequestration can be encounter in agricultural fields enabling at the same time to enhance soil fertility. The challenge of agroecology is therefore to design practices allowing to intensify crop productivity and increase C storage at the same time. Such challenge is particularly important in tropical countries where climate changes are projected to occur 1 to 2 decades earlier than the global average (Niang *et al.*, 2014). Moreover, rain-fed agriculture is the main economic activity in tropical developing countries (FAO 2002) and fertilization is usually applied through organic matter amendments of various origins.

Microorganisms have a key role in carbon and nutrients cycling in soil (Waldrop, Balser and Firestone 2000) and consequently in soil fertility and C storage. Bacterial and fungal diversities are increasingly associated to the fate of organic matter in soil (Moorhead and Sinsabaugh 2006; Neill and Gignoux 2006; Six et al. 2006; Schmidt et al. 2011; Louis et al. 2016). Priming effect (PE) is a stimulation of the soil organic matter (SOM) mineralization by microorganisms following a fresh organic matter (FOM) input (see for review Kuzyakov, Friedel and Stahr 2000). It has been proposed that PE can be generated by two different mechanisms: (1) indirectly via collateral damage exerted on SOM by extracellular enzymes released by FOM feeders, and (2) directly via the co-metabolism of energy-rich FOM catabolites by SOM feeders who mine SOM for nutrients (Fontaine, Mariotti and Abbadie 2003). Chen et al. (2014) have shown that the first process called "stoichiometric decomposition" was fostered by high nitrogen concentration, while the second, called "nutrient mining theory", by nitrogen depletion. Therefore, in the absence of nutrient input (concomitantly with the fresh carbon input), the indirect-PE generating process should happen first and be followed by the direct-PE after exhaustion of available nutrients in the soil solution. Consistently with the heterogeneity states of SOM (Schmidt et al. 2011), some authors have shown that PE generated through the stoichiometric decomposition corresponded to the mineralization of a younger SOM compared to that generating through nutrient mining (Blagodatskaya et al. 2014; Derrien et al. 2014). Consequently, it seems that stoichiometric PE leads likely to increase the transformation of a young SOM, while PE generated by nutrient mining leads likely to the depletion of a more stabilizing SOM.

Many authors have suggested that each process should involve different functional guilds of microorganisms (Fontaine, Mariotti and Abbadie 2003; Chen et al. 2014; Derrien et al. 2014). Hence, the microbial community composition should have an important role in SOM turnover and in the balance between C sequestration and C depletion (Tardy et al. 2015). In a previous study, performed on natural savannas of Madagascar following different climate gradients, we were allowed to differentiate the PE generated by stoichiometric decomposition from that generated by nutrient mining (Razanamalala et al. 2017). Both PE-generated mechanisms were driven in opposite direction by the quantity and quality of SOM. Using the terminology of Moorehead and Sinsabaugh (2006), we have classified the different microbial phylogenetic groups into four functional guilds (opportunists, FOM-decomposers, SOMdecomposers and SOM-miners). We have observed that the opportunists and the FOM and SOM-decomposers were mostly linked to the PE generated by stoichiometric decomposition, while SOM-miners to that generated by nutrient mining. The balance between one to another process appeared to be likely linked to the importance of the young SOM pool and its associated decomposers in soil. Therefore, our hypothesis is that agricultural practices which help to maintain this young SOM pool with its active decomposers guild should foster PE through stoichiometric decomposition after each new FOM amendment and minimize old SOM mining.

The aim of the present work was to define how land use and agricultural practices drive PE through the stoichiometric decomposition process in order to potentially stimulate C sequestration in agricultural soils of Madagascar Highlands. Field Soils were randomly sampled, from a network of smallholders in a farming region closed to Antananarivo. Sampling covered ranges of land use and practices undertaken during cropping and off-season. Soils were characterized with physicochemical and biological descriptors, especially microbial community composition using high throughput pyrosequencing techniques on bacterial and fungal ribosomal gene. Soils were incubated during 7 days in the presence of <sup>13</sup>C labeled wheat-straw to evaluate early PE intensity.

99

## II. Materials and methods

## II.1. Soil sampling strategy

This study was carried out in the agricultural region of Itasy located in the Highlands of Madagascar and submitted to a tropical altitude climate with mean annual temperature of 18.4°C and mean annual precipitation of 1319 mm (https://fr.climate-data.org; climate data come from a climate model using weather data collected from weather stations all over the world between 1982 and 2012). Hillsides of Highlands are dominated by Ferralsols, according to the FAO classification, and are subjected to a hot rainy season from November to April and a cold dry season from May to October. In April 2015, i.e. at the end of the cropping season, soil samples from 45 agricultural parcels managed by smallholder famers and 4 unexploited fields (Bozaka<sup>1</sup>) were sampled in the municipality of Imerintsiatosika (18° 59' 00" S, 47° 19' 00" E). The agricultural plots were located at different topography levels (slope, bottom hill, baihobo<sup>2</sup>), submitted to 3 land use types (subsistence crops, agroforestry and forestry) and different agricultural practices conducted by smallholder famers (Table 1).

Table 1 : Agricultural practices conducted by smallholder famers on the sampled plots during the seas	son
of sampling and the off-season.	

Subsistence crops	Agroforestry	Forestry
Tillag		
cereal culti	vation	
tuber culti	vation	
legume cult	ivation	
compost amendment		
cattle manure a	mendment	
fallow trees		

Agricultural practices were translated in binary variables whether there is an occurrence (1) or not (0) of the practice. This study took into account the different practices conducted during the cropping season and the previous off-season (Table S1). The practices included 3 classes of crops: legume, cereal and tuber. The legume class included green bean, peanut, haricot, pea, voanjobory and acacia. The cereal class included rainfed rice and maize. The tuber class included manioc, sweet potato and taro. In each plot, six soil cores, 0-10 cm depth,

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Local term to define a savanna.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Local term to define areas located close to the flooded rice field.

were sampled using a metallic cylinder. One core was used to measure the soil bulk density and other physicochemical parameters. The remaining 5 soil cores were pooled, sieved (2 mm), and coarse plant debris were removed. Composite samples were maintained at 4°C for no more than one week, prior to further fresh soil incubations and analyses.

#### II.2. Soil characterization

After sampling, soils were physically and chemically characterized at their initial state, before incubation. Soils color was determined as red, yellow or brown using Munsell soil color chart. Soil bulk density and water content were measured by weighing fresh and air-dried bulk soil cores. Particle size distribution was determined by the Robinson pipette method (Pansu and Gautheyrou, 2007). Total carbon (Ctot) and nitrogen (Ntot) contents were evaluated by dry combustion in a CHN analyser (PerkinElmer Inc., Waltham, MA, USA). Particulate organic matter (POM) was measured following the first steps of the procedure by Gavinelli *et al.* (1995). Soil mineral contents (i.e. kaolinite, gibbsite and Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>\_cbd) were estimated by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS), using the model developed by Ramaroson *et al.* (2017).

Soil pH-H<sub>2</sub>O was measured by suspending soil in water (1:5 ratio). The effective cation exchange capacity (CEC) was determined by suspending soil in cobaltihexamine chloride solution (100 mg.l<sup>-1</sup>; 1:10 ratio) at soil pH and measured by flame spectrophotometry (Ciesielski *et al.* 1997). The nitrate and ammonium (NO<sub>3</sub> and NH<sub>4</sub>) contents, obtained after KCl extraction, were determined by colorimetry according to the Berthelot reaction (NH<sub>4</sub>) and the Griess reaction (NO<sub>3</sub>) (Mulvaney, 1986) using an automated continuous flow analyser San<sup>++</sup> (Skalar analytique, France). The total P content was determined using perchloric acid attack (Jackson, 1958). The available phosphorus (av P) content and microbial biomass P (MBP) were measured using anion exchange resin after a fumigation-extraction method (Kouno *et al.*, 1995) adapted from the method of (Amer *et al.*, 1955).

Microbial C (MBC) and N (MBN) were extracted in Madagascar by the fumigation with chloroform and extraction in K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solution according to the method of (Vance *et al.* (1987) adapted by Jenkinson, Brookes and Powlson (2004). MBC and MBN contents were measured in Montpellier by TOC/TN analyser.

#### II.3. Molecular analyses of soil bacterial and fungal communities

After field sampling, 50 g of subsamples were maintained at 4°C for no more than one week, transported to France (Genosol platform, Dijon) and lyophilized for further molecular analyses. Microbial DNA was extracted from 2 g of lyophilized soil subsamples using the procedure described in (Plassart *et al.* 2012). For microbial diversity and composition analyses, banks of 16S and 18S ribosomal sequences were prepared prior to pyrosequencing analyses as described in Maron, Mougel and Ranjard (2011). Pyrosequencing was carried out on a GS FLX Titanium (Roche 454 Sequencing System). Biocomputing analyses were performed using GnS-PIPE (Terrat *et al.* 2012) to identify bacterial and fungal taxonomic groups. Richness and diversity indexes (number of OTUs, 1/Simpson and Evenness indices) were determined at the dissimilarity threshold of 5%. DNA sequences were deposited in the European Nucleotide Archive, under the study accession number PRJEB19977.

#### II.4. Soil microcosm set-up and priming effect assessment

To assess the potential capacity of microbial communities to mineralize native and fresh organic matter at a similar temperature of 27°C, fresh composite soil samples were used to fill 2 series of 150 ml flasks with 10 g of equivalent dry soil. The soil water content was adjusted to 70% of the saturation threshold using sterile deionized water. Both series were preincubated for 7 days at 27°C in the dark. Then, one of the microcosm series was amended with a 7% <sup>13</sup>C-enriched powdered wheat straw characterized by a C:N:P ratio of 108:4:1 (4 mg straw. g<sup>-1</sup> of dry weight soil); the other series was not amended. The microcosms of both series were then incubated (opened) at 27°C in the dark for 7 days. Since the microcosms were left open, the soil water content was controlled throughout the incubation and adjusted with sterile deionized water when needed to prevent variation in soil moisture. Measurements of  $CO_2$  emissions (total  $CO_2$  and <sup>13</sup>C-CO<sub>2</sub>) were performed on the 7<sup>th</sup> day of the incubation. Prior to gas sampling, the microcosms were flushed with air to renew the atmosphere and were hermetically sealed for 3 days before measurements were conducted.

## II.5. Total CO2 and <sup>13</sup>C-CO2 measurements

The total atmospheric CO<sub>2</sub> concentration was measured in all microcosms using a micro-CPG (CP-4900, Varian, Middelburg, The Netherlands). A 5 ml volume of the gaseous phase, of the straw-amended microcosms only, was sampled in Exatainer evacuated tubes for further determination of carbon isotopic abundances using IRMS (Bernard *et al.* 2012). PE was calculated as follows: PE = total measured  $CO_2$  of the straw-amended microcosm - straw-derived  $CO_2$  (calculated from the <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> atomic percentage) - total  $CO_2$  measured in the non-amended microcosm (i.e. Basal Respiration).

#### II.6. Statistics

ANOVA and Tukey's post-hoc test analyses were performed to investigate the effect of topography (slope, bottom hill, baiboho), soil color (red, yellow and black) and land use (Forestry, Bozaka, Subsistence and Agroforestry) on basal respiration (BR), straw mineralization (SM) and PE.

In order to affect microbial phylogenetic groups into one of the three functional guilds (Opportunists, FOM-decomposers and SOM-decomposers), Pearson correlations between the relative densities of bacterial and fungal phyla or families in pristine soil samples and C-mineralization activities were calculated using XLSTAT software (Addinsoft, France). Significance of correlations was tested by the Bartlett test.

In order to study how agricultural practices may drive C-mineralization activities, the dataset has been restricted to the 42 cultivated plots (subsistence and agroforestry). Microbial phylogenetic groups have also been replaced by the functional guilds constituted previously. Pearson correlations between all variables were calculated. Variables showing strong collinearity were removed and all others were used to build up a principal component analysis (PCA). Agricultural practices were introduced into the PCA as supplementary quantitative variables.

#### III. <u>Results</u>

#### III.1. Soil characteristics

The raw data and the main statistics of all soil parameters, including the 7 days mineralization activities (BR, SM and PE), are presented in Table S1. The soil bulk density (BD) ranged between 0.8 and 1.47 g dry soil.cm<sup>-3</sup>. Soil texture was highly variable as clays represented between 32.3 and 74.9% of minerals. The predicted amounts of gibbsite (Gb\_predict), iron oxides (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>\_cbd) and kaolinite (Kt\_predict) respectively ranged between 56 and 542 g.kg<sup>-1</sup> of dry soil, 8 and 70 g.kg<sup>-1</sup> of dry soil and 163 and 568 g.kg<sup>-1</sup> of dry soil. Soils

were acidic (pH: 4.62 to 5.90), with a cationic exchange capacity (CEC) ranging between 0.72 and 14 cmol<sup>+</sup>.kg<sup>-1</sup> of soil. Particulate organic matter (POM) ranged from 1.89 to 38.25 mg POM.g<sup>-1</sup> of soil. In those acidic soils, the carbon (Ctot) was mostly under its organic form (SOC) and ranged from 5 to 44 mg C.g<sup>-1</sup> of soil, with a carbon-to-nitrogen ratio (C:N ratio) comprised between 13 and 24. Mineral Nitrogen content varied between 0 and 22.52 mg.kg<sup>-1</sup> soil for NH<sub>4</sub> and between 0.16 and 11.59 mg.kg<sup>-1</sup> of soil for NO<sub>3</sub>. The total phosphorus varied between 300 and 1800 mg P.kg<sup>-1</sup> of soil while its available form was less than 7 mg.kg<sup>-1</sup> of soil.

#### III.2. Microbial communities' properties

Initial content of microbial C, N and P (MBC, MBN and MBP) was highly variable and MBC accounted for 0.5 % in mean and no more than 2 % of the SOC (Table S1). The 16S and 18S rDNA analyses generated about 10 000 sequences per sample each, and sequences affiliated with the different bacterial or fungal phyla, subgroups and families have been expressed as percentages of total sequences obtained. Bacterial communities were dominated by Proteobacteria (24% of total sequence in mean), and more specifically by the  $\alpha$ -subgroup (10%). Acidobacteria was the second most represented bacterial phylum (17%) with almost all sequences belonging to the GP1 (14% of total). Fungal communities were mainly shared between Ascomycota (32% of total sequences) and Basidiomycota (22% of total sequences). Unknown bacterial and fungal sequences accounted for 12 and 15% respectively. Soil basal mineralization rate at T7 days of incubation (BR) ranged between 1.44 and 3.36 µg C-CO<sub>2.g<sup>-1</sup></sub> soil.h<sup>-1</sup>. Priming effect rate (PE) accounted for 80% of BR in mean, with a variation range between 20 and 200%.

#### III.3. Microbial actors of C-mineralization processes

After 7 days of incubation, initial abundance of bacterial and fungal phyla did not significantly correlate with any of the observed C-mineralization (data not shown). Thus, correlations with C-mineralization activities were investigated at the family level with a significance threshold at P-value < 0.1. This allowed to affect some families into different functional groups in terms of mineralization behavior of the organic matter (Table 2). But this approach restricted the analysis to a small proportion of sequences, especially for bacteria (0.5% of total sequences against 37% for fungi), as only 5 bacterial and 52 fungal families were

investigated. All other families did either not or negatively correlate to any mineralization activities registered at 7 days.

	BR	SM	PF	Functional guild
Bacterial families				
Mycobacteriaceae	0.30	-0.39	-0.01	SOM-decomposers
Bdellovibrionaceae	0.35	-0.37	0.00	SOM-decomposers
Methylobacteriaceae	-0.08	0.34	0.07	Opportunist*
Legionellaceae	0.30	-0.01	0.02	Opportunist*
Actinospicaceae	0.28	-0.22	0.07	SOM-decomposers
Fungal Families				•
Unclas_F_fam	-0.32	<u>0.33</u>	-0.20	FOM-decomposers
Tremellaceae	0.31	0.03	0.19	SOM-decomposers
Nectriaceae	-0.18	0.27	-0.14	FOM-decomposers
Tricholomataceae	0.25	-0.43	<u>0.33</u>	SOM-decomposers
Chaetomiaceae	-0.27	0.52	0.00	FOM-decomposers
Coniochaetaceae	0.13	<u>0.34</u>	0.01	FOM-decomposers
Tubeufiaceae	<u>0.39</u>	-0.29	0.31	SOM-decomposers
Davidiellaceae	<u>0.35</u>	-0.12	-0.01	SOM-decomposers
Myxotrichaceae	<u>0.34</u>	<u>-0.36</u>	0.30	SOM-decomposers
Tapinellaceae	0.26	-0.15	0.43	SOM-decomposers
Kickxellaceae	0.10	-0.18	<u>0.37</u>	SOM-decomposers
Pleosporaceae	-0.11	<u>0.41</u>	0.12	FOM-decomposers
Pezizaceae	0.31	-0.18	-0.16	Opportunist*
Harpochytriaceae	<u>-0.38</u>	0.32	-0.18	FOM-decomposers
Montagnulaceae	0.15	<u>0.38</u>	0.15	FOM-decomposers
Microascaceae	0.04	<u>0.36</u>	0.09	Opportunist*
Corticiaceae	0.17	0.29	0.14	FOM-decomposers
Helotiaceae	-0.00	<u>0.38</u>	0.21	FOM-decomposers
Trechisporaceae	0.27	0.29	0.07	Opportunist*
Gomphaceae	0.27	0.07	0.02	SOM-decomposers
Shiraiaceae	0.11	0.28	0.15	FOM-decomposers
Amphisphaeriaceae	0.03	<u>0.37</u>	0.16	FOM-decomposers
Leptosphaeriaceae	0.07	0.29	-0.06	FOM-decomposers
Pleurotaceae	0.14	0.24	<u>0.37</u>	SOM-decomposers

Table 2: Pearson correlation coefficients between microbial families and C-mineralizations

Bold correlation coefficients represent P-values < 0.01, underlined correlation coefficients represent P-values < 0.05, italic correlation coefficients represent P-values<0.1. \*The Opportunist guild has been composed on the basis of the litterature information.

Basically, families were associated to FOM or SOM decomposers group depending on their correlation with wheat straw mineralization or with BR and/or PE. Most of FOM decomposer families were affiliated to the Ascomycota while most of SOM decomposers families to the

Basidiomycota. Some families have been qualified as Opportunists based on the literature (Lueders *et al.* 2006; Fierer, Bradford and Jackson 2007; Eilers *et al.* 2010; Kirk *et al.* 2008).



III.4. Land use influence on C-mineralization processes

Figure 1: Histogram plot of mean Basal Respiration (BR), Straw Mineralization (SM) and Priming Effect (PE) calculated per land use (Forestry, Bozaka, Subsistence cultures and Agroforestry). For variable, significant differences are indicated by letters (Tukey's post-hoc test, p.values<0.05).

Over the three qualitative variables of our dataset (topography, soil color and land use), Land use was the only one showing an influence on Cmineralization activities. Mean Basal respiration was highest in bozaka and lowest in agroforestry, with Forestry and subsistence showing intermediate levels (Fig 1). Conversely, straw mineralization was highest in subsistence and lowest in Bozaka, while agroforestry showed forestry and intermediate level. Priming effect seemed to follow the same trend than

BR but differences between Land Use types were not significant at a 5% threshold.

## III.5. Correlations between biotic, abiotic soil characteristics and C-mineralization processes

Pearson correlation between all variables led to the removal of 3 of them because of collinearity: sand proportion (in favor of clay proportion), total N content (in favor of total C content), MBC (in favor of MBN). Variables showing any correlations with C-mineralization activities, or with any biotic variables already correlated to C-mineralization activities were also removed from the dataset (available P, total P, nb 16S gene, nb 18S gene 18S:16S, OTU\_B, Evenness B, Inv Simpson\_B, Inv Simpson\_F). All other variables were used to build up a principal component analysis (Fig. 2). The Pearson correlation matrix corresponding to this PCA is presented as Table S2. PE did positively correlate to SM (0.53) and BR (0.31), while SM and BR did not to each other. BR was positively correlated to the SOM decomposers (0.47), the Opportunists (0.42), more globally to the MBN (MBN) and the microbial C:N (0.35), while

negatively to the fungal Evenness (-0.59). SM was positively correlated to the total soil C (0.43), the clay content (0.35) and to the FOM-decomposers (0.40), while negatively to the pH (-0.44). The FOM-decomposers themselves were negatively correlated to soil C:N ratio (-0.53) and the POM concentration (-0.47). PE was strongly and positively correlated to the MBN (0.73), the clay content (0.68), the total soil C (0.54), the SOM decomposers (0.45), the Gibbsite content (0.40), the humidity of soil at the sampling time (0.40) and the NO<sub>3</sub> content (0.35). MBN itself was positively correlated to clay content (0.64), total soil C (0.54), NH<sub>4</sub> (0.43), NO<sub>3</sub> (0.36), and soil humidity (0.49), while negatively to CEC (-0.35) and Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>\_cbd (-0.38).

# III.6. Influence of agricultural practices on soil characteristics and C-mineralization processes

Correlations between agricultural practices and all other measured or calculated variables can also be seen in Figure 2 and coefficients in Table S2. Fallow, number and density of trees and Off-season tuber culture (OS-tuber), have been removed from the ACP calculation as they did not show any correlations with any of the C-mineralization activities or other soil biotic variables. Correlation coefficients were weaker than between all other measured variables. No agricultural practice was directly correlated to any C-mineralization process except cereal culture during off season (OS-cereal) which was negatively correlated to PE (-0.31). But agricultural practices could influence microbial activities indirectly through the way they impact biotic and abiotic soil parameters. Biotic parameters were also weakly impacted except also by OS-Cereal which did positively correlate to MBP and opportunists and negatively to MBN. Compost amendment did also correlate negatively to microbial C:N, while tubers culture did positively correlate to the number of fungal OTU. Major correlations were found with abiotic soil parameters. Some practices did correlate to soil parameters like texture or mineralogy, but we doubt that agricultural practices could really impact such characteristics in the short term. Among other parameters, POM did positively correlate to OS-cereal culture, and compost amendment, while negatively to tuber and OS-legume culture. CEC did positively correlate to OS-cereal culture and compost amendment, during the culture season and the offseason. Compost fertilization did also foster soil NH<sub>4</sub> concentration, and soil humidity in the long term. Cattle manure fertilization during the off-season increases the soil pH. Finally, Tuber culture did negatively correlate to total soil carbon. A conceptual diagram relating the principal correlations network between agricultural, abiotic and biotic variables has been elaborated (Fig. 3).



Figure 2: Biplot representation of the principal component analysis (PCA) calculated on soil biotic and abiotic variables (Plain triangles). Agricultural practices were inserted in the analysis as quantitative supplementary variables (empty triangles). Samples are represented with plain grey circles. C-Mineralization activities (BR: basal respiration, SM: straw mineralization, PE: priming effect) were represented by plain black triangles).

#### IV. Discussion



Figure 3 : Conceptual diagram relating the correlations network between agricultural practices, soil abiotic and biotic parameters, microbial functional groups and C-mineralizations. Arrows indicate a significant correlation between variables with direction based on scientific knowledge. Bold, underlined and italic characters indicate the level of significance of the correlation, respectively under a threshold of 1%, 5% and 10%. Grey dotted and black plain arrows indicate negative and positive correlations respectively. Value written next to an arrow indicates the Pearson coefficient calculated between both variables. Abbreviations: POM: Particulate Organic matter; Hum: soil humidity at sampling; C:N: Carbon-to-Nitrogen ratio; MBN: microbial biomass nitrogen; Ctot: total carbon; -F: fungal; OS-: off season; BR: Basal respiration; SM: Straw mineralization; PE: Priming Effect

#### IV.1. Importance of microbial communities in C dynamic in agricultural soils

In a previous study, performed on natural savannas, all mineralization activities (BR, SM and PE) were related to the bacterial community composition (Razanamalala *et al.* 2017). Conversely, in the agricultural soils of the present study, fungal populations only appeared to drive mineralization processes (Table 2). Although, the ratio 18S:16S was about five time lower than in natural savannas, it seems that the fungal compartment plays a key role in those agricultural systems. Van Groenigen *et al.* (2010) pointed out that the role of fungi and bacteria in SOM dynamics is mostly determined by their respective growth rates and not by their total biomass, and also by their community composition. Conversely to natural savanna ecosystems, we were almost not able to find any correlation between bacterial specific gene relative densities and carbon cycling activities, and at any phylogenetic level. This can be explained by the stability of natural ecosystems compared to highly disturbed agricultural soils. Moreover, soils coming from little farmer plots, supposed to undergo changes in culture,

management and fertilization every season, should have a more complex history than those from long term agronomic trials. Actually, extracted DNA integrates more the system history than the actual conditions for several ecologic reasons (Ge *et al.* 2008), but also because free DNA has the property to be highly protected by clay minerals (Recorbet *et al.* 1993). Therefore, in constantly disturbed ecosystem, RNA based approaches should eventually better reflect the bacterial actors of the soil organic matter dynamics at the sampling date.

Fungal and bacterial families positively correlated to basal respiration and or PE were classified as SOM-decomposers except for the opportunists which were classified based on the literature. BR was correlated to some delta-proteobacteria and actinobacteria families and to Ascomycota (Tubeufiaceae, Davidiellacee, Myxotrichaceae) and Basidiomycota (Tremellaceae, Gomphaceae) families (Table 2). Those families represented no more than 10% of the total sequences but could corresponds to key actors in the decomposition of SOM of various quality and level of recalcitrance. Fungal Evenness being strongly and negatively correlated to BR, suggested that basal respiration is linked to a restricted number of fungal populations. Those appeared to drive the decomposition of SOM and share the final mineralization by the whole microbial biomass including the opportunist populations (Fig. 3). The Opportunists guild was positively correlated to the microbial P confirming that those populations have high growth rates and high cellular ribosome contents (Klappenbach *et al.* 2000).

Many other fungal families were positively correlated to wheat straw mineralization (29% of total fungal sequences): unclassified fungal families, saprophytic fungi and early decomposers such as Harpochytriaceae, Corticiaceae, and many other Ascomycota families like Nectriaceae, Chaetomiaceae, Coniochaetaceae, Pleosporaceae, Montagnulaceae, Helotiaceae, Shiraiaceae and Leptosphaeriaceae (Schoch *et al.* 2009; Kirk *et al.* 2008). Ascomycota are known to prefer higher litter quality (nutrient enriched) than other fungi like the Basidiomycota (Christensen 1989). They were likely stimulated by the wheat straw we applied which had a low C:N of 27.

Early PE at T7 days, was positively correlated to both BR and SM, as well as the microbial biomass, and the soil content in C and in NO<sub>3</sub>. All these correlations confirmed that PE was generated by the stoichiometric decomposition process and therefore by the FOM decomposer extracellular enzymes helping the populations mineralizing young SOM (Chen *et* 

110

*al.* 2014; Razanamalala *et al.* 2017). In the present case, the exoenzymes were mainly liberated from Ascomycota families, it would have helped to the decomposition of a more labile young SOM than that decomposed by the basidiomycetes, and stimulated the mineralization activity of bacteria (MBN). As already discussed for BR, PE should result from a kind of commensalism between fungi and bacteria concerning recalcitrant plant derived compounds that is defended by de Boer and colleagues (2005). Of course, some fungal populations appeared to be also participating to this extra CO<sub>2</sub> release, like the mycorrhizal Tricholomataceae, Kickxellaceae and Pleurotaceae (Campoamor and Molina 2001). There are increasing evidence that mycorrhizal fungi have the capacity to decompose structural compounds like cellulose or even lignin and tannins, and that they can benefit from the energy supply brought by the host plant (Talbot, Allison and Treseder 2008). Here, we evidenced, that straw residue decomposition, generating an extra-enzymes release by the FOM-decomposers, could also indirectly benefit to the mycorrhizal fungi decomposition work and therefore to the crop nutrition.

#### IV.2. Determinants of microbial communities

Microbial biomass is usually controlled by bottom up and top down factors, like growthinducing substrates and predatory. In the present study (Fig. 1), the first factors controlling MBN were the clay and SOM content. Positive relationship between SOM content and microbial biomass already well documented (Fierer et al. 2009; Dequiedt et al. 2011). And positive relationship between clays and MBN is easy to conceive. Clays is known to protect the organic matter from biodegradation including also an important part of labile molecules like proteins or carbohydrates (Derrien et al. 2014; Kallenbach, Frey and Grandy 2016). And this chemical refuge is sensitive to microscale pH variations happening for instance during organic matter decomposition process. Clay is also an important factor of soil structure by promoting soil aggregation which foster humification of soil organic matter. Microbial biomass seems to be more constraint by N availability than by P even in those strongly P depleted soils. The reason could the strong P fixing capacity of Ferralsols which avoided to accurately measure P availability by standard method and which would have required the use of <sup>32</sup>P to evaluate the kinetics exchange between soil solution and metal oxides. Anyway, the fact that iron oxides - Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, that has been reported to adsorb available phosphate present in acidic soils (Barrow 2017) drove negatively microbial biomass, highlighted a colimitation by both N and P nutrients in those Ferralsols.

SOM decomposers guild appeared to follow similar control than microbial biomass (MBN), while Opportunists populations are not driven by any soil parameter measured here. FOMdecomposers guild was negatively correlated to MBN, as well as to POM, soil C:N, humidity, pH and NH4 content. Soil C:N is an indicator of high quality SOM, comprising an important part of plant debris like POM. The wheat-straw we added should be of similar quality than POM. Therefore, the FOM decomposers should also drive the POM decomposition. Our results suggest that FOM-decomposers size, which depends strongly on fungal diversity (F-OTU) should be negatively controlled by edaphic factors like pH, humidity and soil NH<sub>4</sub> content. And when FOM decomposers are restricted, POM accumulates. Wheat straw mineralization was not only affected by the FOM-decomposers density but also positively by SOM content and negatively by pH. The decomposition of fresh and complex organic matters is carried out by extracellular enzymes whose activities strongly depend positively or negatively on pH, especially in Malagasy Ferralsols (Kedi et al. 2013). SOM content, but not POM, foster the straw mineralization, but not through the identified straw decomposers. This can be the sign that part of the straw mineralization was performed by some microbial populations usually linked to a SOM of lower quality. This could be a switch of substrate realized by SOM-miners to further generate PE through nutrient mining (Bernard *et al.* 2007).

#### IV.3. How agricultural practices can drive C-mineralization activities.

Contrary to our expectation on effects of land use on C-mineralization, forestry an agroforestry showed lower basal respiration than bozaka and forestry and subsistence showed no significant differences. Indeed, in other tropical agroforestry, the presence of trees increased soil respiration (Chander *et al.* 1998; Kurzatkowski *et al.* 2004). Our results can be explained by the young age of most of the trees on these plots. Their effect on soil respiration probably be negligible compare to the basal respiration in subsistence and bozaka plots. It will be profitable to realize the study on these plots in a few years when the trees will be well-estabilshed and taller. If the patterns remain the same, that may signify that agroforestry increases C storage in woody biomass instead of promoting humification.

We did not expect to observe any direct effect of culture type on soil carbon content, because of the high frequency of rotations usually applied by small farmers. The only crop showing an effect is Tuber, which decreased the soil C content. In this region, Tuber is often grown intensively in the same plot, without fertilization, until the plot is not fertile anymore.

112

Tubers do not bring any POM to the soil and the soil is regularly disturbed at the culture harvest. When we have tried to differentiate plots with intensive Tuber culture from plots where Tuber was in rotation with other crops (data not shown), we have observed that rotation eliminates the negative effect on SOM content. Legumes possess the capacity to fix atmospheric N2 via the symbiosis with rhizobiales bacteria (Ferguson et al. 2010). As C/N and C/P ratio of legumes are lower than other crops, and N and P nutrients are required to produce microbial biomass and in the long-term humus, the introduction of legumes into crop rotations is preconized to increase long time C sequestration (see for review Jensen et al. 2012). In the present case, legumes positively influenced the soil NH<sub>4</sub> content, which drives the microbial biomass and more precisely SOM-decomposers, even if the relationship was weak. At the opposite, legumes did not enrich the soil in POM like Cereal culture did. And it appeared that cereal lowered the whole microbial biomass and the PE while it promotes the opportunistic populations. Cereal-legumes intercropping, while often proposed to increase crop yield through plant facilitation or niche complementarity during the cropping season (Bedoussac et al. 2015), might also promote C sequestration after the plants harvest through the enrichment of soil in POM and nutrients together.

Tillage, by its capacity to break soil structure and increase soil oxygenation, is always presented as a practice leading to an increase in microbial respiration with less biomass production, and therefore a weaker carbon use efficiency (CUE) than in no tillage systems (Mangalassery *et al.* 2015; Nivelle *et al.* 2016). In the present work, tillage reduced SOM mineralization (BR and PE) by changing the fungal community structure. Actually, tillage inhibited SOM decomposers populations. Therefore, no-till appeared to foster young SOM mineralization by the stimulation of key fungal actors leading to microbial biomass formation, and might increase old SOM stock in the long term as already shown in the literature (Nivelle *et al.* 2016).

Cattle manure is traditionally used as first fertilizer by Malagasy farmers because of its low cost compared to mineral NPK (Andriarimalala *et al.* 2013). Cattle manure is often poor in term of fertilizing power, because of a nutrients loss due to bad storage conditions. Different initiatives in Madagascar Highlands have been run to improve the quality of cattle manure (Salgado *et al.* 2011). In the present work, and conversely to previous studies cattle manure amendment had no direct effect on microbial biomass or mineralization activities (Parham *et* 

113

al. 2002, 2003; Ros et al. 2006). It only tended to increase the soil pH on the long term, which appeared to lower straw mineralization (Fig. 3). In the region of sampling, smallholder farmers belong to a development program driven by the NGO Agrisud International who promoted the composting of animal manures with different quality of crop residues. Composting is known to lower the C:N of the organic matter but also to increase its recalcitrance, leading to a regular and long term nutrient delivery (Bulluck III et al. 2002; Pérez-Piqueres et al. 2006). Here, we observed that compost application at the seedling time led to a higher soil NH<sub>4</sub> and a higher quantity of POM at the end of the cropping season, and led to retain soil water even one season later (Fig.3). Compost should led indirectly to an increase in microbial biomass mainly due to bacterial compartment stimulation considering the negative correlation with microbial C:N. And finally, it increases the CEC, even in the long term, which is usually considered an indicator of soil fertility. As compost is supposed to be the end product of microbial mineralization, its quality should mimic old SOM with less recalcitrance. Therefore, it is not excluded that PE registered in this case was also generated by nutrient mining targeted on compost OM instead of old SOM. It seems that composting cattle manure is effectively better in term of N delivery to crops. Moreover, compost amendment should promote soil C sequestration by bringing POM and nutrients together for microbial biomass formation. And also compost should bring a king of humified organic matter substituting to old SOM during PE via nutrient mining.

#### Acknowledgments

The present study was funded by the French Foundation for Research on Biodiversity (FRB-AAP-SCEN-2013 II – CAMMiSolE project). The travel associated with sampling was sponsored by the local facilities of the French National Institute of Research for Development (IRD). The first author was awarded of two mobility research grants funded by Agropolis Foundation (AAP Open Science- CARIM project) and the French Ministry of Foreign Affairs (MAE-Bourse BGF) to travel from Madagascar and stay for 5 month at INRA Dijon to perform the molecular analyses. We would like to thank the whole consortium of the CAMMiSolE project for their help in the soil sampling at farmer plots.

Chapitre V : Discussion et conclusion

Chapitre V : Discussion et conclusion

Le Priming Effect (PE) est l'augmentation de la minéralisation de la matière organique des sols (MOS) par les microorganismes après l'apport d'une matière organique fraiche (MOF; Bingeman et al., 1953; Kuzyakov et al., 2000). Ce PE serait généré par 2 mécanismes distincts : le PE stœchiométrique et le PE par « nutrient mining » (Fontaine et al., 2003; Blagodatskaya et al., 2014). Ces deux mécanismes ont leurs propres acteurs, dynamiques et substrats (Blagodatskaya et al., 2014; Derrien et al., 2014) mais peuvent coexister spatialement et temporellement. Ils ont aussi leurs propres déterminants et ciblent des pools de MOS différents. Le PE stœchiométrique résulte de la dégradation collatérale de MOS peu évoluée par les enzymes extracellulaires libérées par des microorganismes ciblant la MOF apportée. Les microorganismes impliqués dans la décomposition de la MOS peu évoluée profitent donc de l'effort de décomposition supplémentaire apporté par ces enzymes. Le PE par « nutrient mining » résulte quant à lui du co-métabolisme des catabolites de la MOF et de la MOS plus évoluée, par certains microorganismes. Ces microorganismes utilisent les catabolites de la minéralisation de la MOF comme source d'énergie pour extraire les nutriments de la MOS stabilisée. Le PE stœchiométrique serait donc une stimulation de la voie de l'humification tandis que le PE par « nutrient mining » serait plutôt une stimulation du déstockage de C et de la remobilisation des nutriments. Pour comprendre comment piloter ces processus à la parcelle afin d'améliorer la fertilité des sols dans un contexte de changement climatique, nous avons réalisé 3 études nous permettant d'identifier les acteurs de chacun des processus, leurs déterminants proximaux et leurs sensibilités face au climat et aux pratiques agricoles (Fig. 1).

#### I. Les acteurs du PE : bactéries vs champignons

Pour identifier les acteurs du PE, nous avons commencé par classer les microorganismes dans des guildes fonctionnelles, et nous nous sommes appuyés sur la terminologie de (Moorhead and Sinsabaugh, 2006). Dans cette terminologie, les microorganismes sont répartis selon leur affinité pour une certaine qualité de matière organique. Ils sont classés en 3 guildes : (1) les opportunistes, qui utilisent la matière organique labile et facilement assimilable, (2) les décomposeurs qui s'attaquent à la matière organique plus réfractaire comme les tissus végétaux et (3) les mineurs qui déstabilisent la matière organique humifiée du sol. Par contre, d'après ces auteurs, les opportunistes sont essentiellement des bactéries, les décomposeurs des actinomycètes et les mineurs des champignons. Nous avons préféré

travailler sans *a priori* et nous sommes partis du principe que bactéries et champignons pouvaient être répartis dans chacune de ces guildes.



Figure 1 : Schéma conceptuel des processus de génération du priming effect



Dans les chapitres II et IV, nous avons confronté les données de la littérature aux corrélations que nous trouvions entre la densité relative des différents groupes phylogénétiques bactériens et fongiques dans les sols prélevés et l'intensité des différentes minéralisations (respiration basale, minéralisation des substrats enrichis en <sup>13</sup>C et PE). Dans le chapitre III, nous n'avons pas analysé la communauté fongique. En revanche, nous avons analysé la communauté bactérienne pas seulement sur le sol de départ mais également pendant l'incubation, aux deux temps de mesure du PE. Nous avons donc pu appréhender l'effet des apports en substrats frais sur la dynamique des groupes phylogénétiques présents.

Dans chacune des trois études, nous avons commencé par regarder les corrélations entre diversité génétique et activité de minéralisation au niveau phylogénétique le plus élevé, en l'occurrence le niveau phylum. Lorsqu'aucune corrélation notable n'était observée, nous regardions les niveaux inférieurs (i.e. classes, ordres, familles...). Le tableau 1, regroupe la composition en groupes phylogénétiques des différentes guildes fonctionnelles déterminée dans chacune des 3 études. Conformément aux travaux de Fierer *et al.* (2012), nous avons observé des différences de communauté microbienne entre sols non cultivés et sol agricoles.

Tableau 1 : Positionnement des groupes phylogénétiques bactériens (vert) et fongiques (marrons) dans les différentes guildes fonctionnelles pour chacune de nos 3 études. Caractères gras : groupe phylogénétique affecté à différentes guildes fonctionnelles suivant l'étude.

	EXPERIENCE SUR LES	EXPERIENCE SUR LES	EXPERIENCE SUR LES		
ETUDES	DETERMINANTS	TYPES DE SOLS ET LES	DETERMINANTS		
	CLIMATIQUES	QUALITES DE MOF*	AGRICOLES		
OPPORTUNISTES	Burkholderiaceae (β- proteobactérie) et γ-proteobactéries	<b>γ</b> -proteobactéries	Legionellaceae; Methylobacteriaceae ; Pezizaceae; Microascaceae; Trechisporaceae		
DECOMPOSEURS MOF	Firmicutes ; Actinobactéries	Firmicutes ; Actinobactéries ; α-proteobactéries ; δ-proteobactéries ; Verrucomicrobia ; Chloroflexi	Firmicutes ; Actinobactéries ;	Firmicutes ; Actinobactéries ;	Nectriaceae ; Chaetomiaceae ; Coniochaetaceae ; Pleosporaceae ; Harpochytriaceae ; Montagnulaceae ; Corticiaceae ; Helotiaceae ; Shiraiaceae ; Amphisphaeriaceae
DECOMPOSEURS MOS	<ul> <li>α-proteobactéries ;</li> <li>δ-proteobactéries ;</li> <li>protéobactéries non identifiées ;</li> <li>Planctomycètes ;</li> <li>Acidobactéries GP 1, 2 et 6</li> </ul>		Mycobacteriaceae ; Bdellovibrionaceae ; Actinospicaceae ; Tremellaceae ; Tricholomataceae ; Tubeufiaceae ; Davidiellaceae ; Myxotrichaceae ; Tapinellaceae ; Kickxellaceae ; Pleurotaceae		

MINEURS	bactéries non identifiées ; Acidobactéries GP4 ; Chloroflexi	Gemmatimonadetes ; Planctomycètes ; Acidobactéries	ND
---------	---	--	----

\*Pas d'analyse phylogénétique des communautés fongiques.

La première observation intéressante de ce travail est que les flux de CO<sub>2</sub> mesurés dans les sols sous savanes le long de gradients climatiques (chapitre II) étaient tous principalement corrélés à des groupes phylogénétiques bactériens. Par contre, ceux enregistrés dans les sols d'un réseau de parcelles agricoles (chapitre IV) étaient plutôt corrélés à des groupes phylogénétiques fongiques. Différentes explications peuvent être avancées. Tout d'abord, les communautés bactériennes réagissent vite aux différents stress environnementaux. Il est donc logique que dans un milieu anthropisé, où le sol est régulièrement remanié, la densité des populations bactériennes ne reflète pas les flux respiratoires. D'autant plus que ces densités spécifiques sont basées sur l'analyse de l'ADN qui est une molécule très persistante dans le sol même après la mort des cellules. A l'inverse, les sols non cultivés sous savanes qui ne sont jamais perturbés, doivent être à l'équilibre et présenter de bonnes corrélations entre densités génétiques bactériennes et flux de CO<sub>2</sub>. Pour les sols perturbés, une approche basée sur l'extraction des ARN au lieu des ADN pourrait être plus adaptée à l'analyse du rôle des acteurs bactériens dans la minéralisation des MO. Une explication complémentaire vient aussi du fait que les apports en MO sont la principale source de fertilisants utilisée par les petits cultivateurs à Madagascar. Or il a déjà été montré que les pratiques agroécologiques basées sur des apports organiques stimulent le développement des communautés fongiques (Hendrix et al., 1986; Six et al., 2006; Song et al., 2015).

#### I.1. Guilde des opportunistes

Pour composer **la guilde des Opportunistes**, nous nous sommes essentiellement basés sur les données de la littérature, puisque c'est le groupe fonctionnel le mieux décrit en raison de sa richesse en espèces cultivables en laboratoire. Nous avons remarqué que ce groupe était souvent relié à la fois à la respiration basale, à la minéralisation du substrat marqué apporté et au PE stœchiométrique. Ce résultat semble assez logique, puisque cette guilde est sensée regrouper des populations qui consomment la part la plus facilement assimilable des MO. Ces populations profitent donc des métabolites libérés lors de la décomposition des MO quelle que soit leur origine. Dans ce groupe on retrouve les  $\gamma$ -proteobactéries, certaines  $\beta$ - proteobactéries comme les Burkholderiaceae très présentes dans les rhizosphères et certaines  $\alpha$ -proteobactéries comme les méthylobacteriaceae qui assimilent les composés à un seul carbone. Ces groupes phylogénétiques sont caractérisés, d'après la base de données rrn DB (Stoddard *et al.*, 2015), par des nombres de copies de gènes ribosomaux entre 6 et 7 en moyenne, ce qui confèrent à leurs représentants la capacité de croitre rapidement en présence de substrat labile. Nous avons pu le confirmer dans le chapitre III, où la minéralisation du glucose était positivement corrélée à la croissance des  $\gamma$ -proteobactéries. On retrouve également du côté fongique des Pezizaceae, Microascaceae, et des Trechisporaceae. Les Pezizaceae et Microascaceae sont des Ascomycètes et les Trichisporaceae sont des Basidiomycètes.

#### I.2. Guilde des décomposeurs

Dans la première étude sur les déterminants climatiques (chapitre II), nous avons scindé la guilde des Décomposeurs en deux : les décomposeurs de MOF et les décomposeurs de MOS. Dans cette étude sur sol de savane, la minéralisation du blé marqué (MOF) au début de la cinétique (à T7) n'était pratiquement corrélée ni à la respiration de base, ni au PE. Les groupes phylogénétiques qui étaient positivement corrélés à la minéralisation du blé ont donc été qualifiés de décomposeurs de MOF, donc intervenant dans les toutes premières étapes de décomposition des résidus végétaux. Ils correspondent aux Firmicutes et aux Actinobactéries, ce qui correspond bien à ce qui a déjà été décrit dans la littérature (Klappenbach et al., 2000; de Boer et al., 2005; Jorquera et al., 2008; Bernard et al., 2012; Pascault et al., 2013). Dans cette même étude, nous avons pu identifier le PE à T7 comme provenant d'un processus de décomposition stœchiométriques. Les groupes phylogénétiques positivement corrélés au PE ont donc été qualifiés de décomposeurs de MOS, et donc spécifiques d'une matière organique encore jeune. Il s'agit des Protéobactéries des classes  $\alpha$ - et  $\delta$ - ainsi que des Protéobactéries non identifiées, des Planctomycètes et des Acidobactéries des groupes 1, 2 et 6. Nous en avons donc conclu que les enzymes extracellulaires, libérées par les Firmicutes et les Actinobactéries pour décomposer le blé, avaient également permis de stimuler la décomposition d'une MO encore jeune par les décomposeurs de MOS précédemment cités.

Dans la deuxième étude (chapitre III), on retrouve à peu près les mêmes groupes phylogénétiques dans la guilde des décomposeurs mais sans pouvoir différentier les groupes spécialisés dans la décomposition de la MOF de ceux spécialisés dans la décomposition de la

120

MOS. Dans cette étude, le PE généré par décomposition stœchiométrique était très fortement corrélé à la minéralisation du substrat générateur, en l'occurrence la paille de riz. Les groupes phylogénétiques étaient donc corrélés aux deux, ce qui ne permet pas de savoir si ces mêmes espèces décomposent les deux MO ou si certaines sont spécialisées pour l'une d'entre elles.

Dans la dernière étude sur sols cultivés (chapitre IV), on a à nouveau pu différentier les décomposeurs spécialistes de la MOF de ceux spécialistes de la MOS. Au sein des communautés fongiques, la majorité des familles corrélées à minéralisation du blé appartenaient au phylum des Ascomycètes, tandis que celles corrélées à la minéralisation de la MOS (respiration basale) étaient plutôt corrélées aux Basidiomycètes. Du côté bactérien, ont été classés dans les décomposeurs de MOS des familles appartenant aux Actinobactéries (Actinospicaceae et Mycobacteriaceae) et aux  $\delta$ -Proteobactéries (Bdellovibrionaceae), ce qui rejoint les deux précédentes études. Par contre dans cette étude, très peu de groupes phylogénétiques étaient spécifiquement corrélés au PE qui semblait être surtout corrélé à la biomasse microbienne totale, majoritairement bactérienne au vu des ratio champignons/bactéries. Dans cette étude, ce serait donc plutôt des enzymes fongiques qui auraient amplifié la décomposition de la MOS du sol et donc stimulé l'activité de minéralisation des communautés bactériennes.

#### I.3. Guilde des mineurs

Dans la première étude (chapitre II), nous avons défini **la guilde des Mineurs** comme la guilde intervenant dans les étapes tardives de minéralisation de la MOF. Les populations de mineurs auraient les capacités de minéraliser la part la plus récalcitrante de la MOF ainsi que la fraction de la MOS en stabilisation, et interviendraient ainsi dans le PE via « nutrient mining ». Ainsi, les groupes phylogénétiques qualifiés de mineurs étaient ceux négativement corrélés à la minéralisation basale et positivement corrélés à la minéralisation de la MOF et au PE en fin de cinétique (T42). Cette guilde était composée des Chloroflexi, du groupe 4 des Acidobactéries et des bactéries non identifiées. Les Chloroflexi et les Acidobactéries sont des bactéries difficilement cultivables et aux caractéristiques oligotrophes (Fierer *et al.,* 2007, 2012; Davis *et al.,* 2011). Ils ont notamment été retrouvées dans des mini-colonies bactériennes à la croissance très lente et tardive (Davis *et al.,* 2011) et leur abondance relative était souvent négativement corrélée à la teneur du sol en nutriments (Fierer *et al.* 2012). La présence de bactéries non identifiées dans cette guilde confirme que les bactéries

difficilement cultivables pourraient avoir des capacités enzymatiques pour croitre sur des ressources organiques complexes. Ces caractéristiques de stratèges K confirment ainsi leur appartenance à la guilde des mineurs. Dans la deuxième étude (chapitre III), la composition de la guilde des mineurs dans des sols agricoles étaient différente de celle observée dans les sols non cultivés. Dans les sols cultivés, ce sont les Gemmatimonadetes, les Planctomycètes et les Acidobactéries que nous avons identifiées comme mineurs. Le point commun entre les mineurs retrouvés dans la première et la deuxième étude est que les groupes phylogénétiques présentent des caractéristiques oligotrophes. Cela confirme que de nombreux groupes phylogénétiques peuvent être impliqués dans le cométabolisme de la MOF et de la MOS mais que leur activité/activation est modulée par le contexte physico-chimique de leur environnement. La dernière étude sur sols cultivés (chapitre IV) étant focalisée sur le PE stœchiométrique et donc sur une courte période après l'amendement en paille de blé, nous n'avons pas pu classer de groupes phylogénétiques dans cette guilde.

On peut remarquer que certains groupes phylogénétiques n'ont pas été associés à la même guilde dans toutes les études (Tableau 1). Il s'agit des Planctomycètes et des Chloroflexi qui semblent être tantôt des décomposeurs, tantôt des mineurs. Ces phyla sont difficilement cultivables, ainsi le peu d'organismes isolés cache une possibilité de diversité de métabolismes. La majorité des Planctomycètes caractérisés jusqu'à maintenant sont oligotrophes et spécialisés dans le métabolisme des lipides (Fuerst, 1995; Buckley et al., 2006). Cependant, il existe des preuves d'une diversité métaboliques chez les Planctomycètes. Par exemple, Ils ont été retrouvés dans des habitats avec des statuts trophiques différents (milieux oligotrophes, eutrophes, pollués,...). Ils sont généralement hétérotrophes mais certains présentent la capacité d'oxyder l'ammonium en anaérobie, l'Anammox (Fuerst, 1995; Buckley et al., 2006). De plus, il a été démontré que l'historique des sols a un effet significatif sur la composition des Planctomycètes (Buckley et al., 2006). Les Chloroflexi, quant à eux, ont d'abord été isolés des habitats extrêmes. Dans les sols, ils ont été identifiés comme des oligotrophes spécialisés dans la décomposition de polymères végétaux (Yabe et al., 2010; Hug et al., 2013; Barton et al., 2014; King and King, 2014) la grande diversité phylogénétique de ce groupe suggère une grande diversité de métabolismes. Ainsi les sols de savane peu/non perturbés de la première étude et les sols agricoles et continuellement perturbés de la deuxième étude ont pu sélectionner différentes populations fonctionnelles de Planctomycètes et Chloroflexi.

#### II. Les déterminants proximaux

Les déterminants proximaux du PE modulent l'équilibre entre PE stœchiométrique et PE par « nutrient mining » via leurs effets sur la communauté microbienne et son activité. Dans la littérature, ces déterminants sont principalement les teneurs en nutriments, et plus spécifiquement l'azote biodisponible, et la quantité de MOS (Fontaine *et al.*, 2004; Blagodatskaya and Kuzyakov, 2008; Dijkstra *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2014). Le tableau 2 regroupe les déterminants du PE que nous avons identifiés dans nos trois études.

ETUDE	EXPERIENCE SUR LES DETERMINANTS CLIMATIQUES	EXPERIENCE SUR LES TYPES DE SOLS ET LES QUALITES DE MOF	EXPERIENCE SUR LES DETERMINANTS AGRICOLES
DETERMINANTS PROXIMAUX DU PE STOECHIOMETRIQUE	quantité de MOS peu évoluée ; biomasse microbienne ; pH	Type de sol ; MOF riche en composés de faible poids moléculaire ; Disponibilité en azote et phosphore	disponibilité en azote ; pH ; quantité de MOS peu évoluée
DETERMINANTS PROXIMAUX DU PE VIA « NUTRIENT MINING »	quantité de MOS évoluée ; pH	Type de sol ; MOF riche en composés à poids moléculaire élevé ; disponibilité en phosphore	N.D.

Tableau 2 : Déterminants proximaux des deux processus de génération du PE dans chacune des 3 études

Dans ces études, nous avons confronté les déterminants du PE définis dans la littérature aux effets de la carence en nutriments N et P observés dans des Ferralsols non cultivés et cultivés soumis à des climats tropicaux d'altitude. Dans les sols non cultivés du centre de Madagascar, le PE, qu'il soit stœchiométrique ou par « nutrient mining », ne semblait pas corrélé à la disponibilité en nutriments N ou P (chapitre II). Ceci pourrait s'expliquer par un fort turnover des nutriments dans ces sols non anthropisés et donc quasiment « à l'équilibre ». Par contre dans les sols agricoles, la teneur en azote restait un facteur déterminant du PE issu de chaque mécanisme et dans le sens décrit dans la littérature. En effet, le PE stœchiométriques était favorisé par la disponibilité en NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (chapitre III) et en NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Chapitre IV), tandis que le PE par « nutrient mining » était favorisé par la carence en N

minéral (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (chapitre III). Malgré la forte carence en phosphore biodisponible des sols ferrallitiques, le phosphore limitait le PE stœchiométriques de façon moins forte que l'azote (chapitre III et IV). Par contre, la deuxième étude, sur les 3 sols agricoles ayants des teneurs en C, N et P très différentes, a permis de mettre en évidence que si la carence en N favorise le PE par « nutrient mining », la disponibilité en P limite son amplitude. Nous expliquons cette observation par le coût énergétique de la synthèse d'enzymes spécialisées pour le catabolisme de la MOS évoluée, et donc le besoin cellulaire en P pour des cofacteurs enzymatiques de type NADPH ou ATP (Bradford *et al.*, 2008).

Nous avons également observé que la qualité de la MOS (chapitre II, III et IV) et de la MOF apportée (chapitre III) déterminait le processus de génération du PE. Dans la première étude (chapitre II), la MOS des sols de savanes présentait, le long des gradients climatiques, des teneurs et des C:N différents, reflétant son état d'évolution. La MOS à C:N élevée est généralement une MO peu évoluée, riche en carbone labile. La MOS à faible C:N est une MO évoluée enrichie en azote par rapport au carbone à cause de la perte de son carbone par la respiration hétérotrophe. L'incubation de ces sols, en utilisant de la paille de blé marquée, a permis d'observer que la qualité, et pas seulement la quantité, de la MOS était un déterminant des processus de génération de PE. Un PE précoce était positivement corrélé à la quantité de MOS et à son C:N, qui favorisaient une biomasse microbienne plus élevée et plus enrichie en décomposeurs. Nous en avons déduit qu'il s'agissait bien d'un PE stœchiométriques malgré l'absence de corrélation avec la teneur en azote minéral du sol. Les mêmes corrélations ont été trouvées sur le réseau de parcelles paysannes de notre 3<sup>ème</sup> étude (Chapitre IV). Dans la première étude, un PE tardif était négativement corrélé à la quantité de MOS, son C:N et la biomasse microbienne, mais positivement corrélé à la guilde des mineurs. Nous en avons donc déduit qu'il avait été généré par « nutrient mining ». Durant notre deuxième étude, ce rôle important de la qualité de la ressource en matière organique a été confirmé dans 3 sols agricoles (chapitre III). Dans cette étude, la qualité de la MOS avait été appréhendée par la méthode de fractionnement granulométrique. Les fractions les plus grossières correspondent aux débris végétaux, tandis que les fractions les plus fines correspondent aux complexes argilo-humiques. Nous avons pu confirmer que le PE stœchiométriques était favorisé par une teneur importante en fractions grossières et donc en MO jeune, tandis que le PE par « nutrient mining » était plutôt favorisé par une forte teneur en fraction fine. Cette même étude nous a

permis d'appréhender le rôle de la qualité du substrat générateur sur l'équilibre entre PE stœchiométriques et « nutrient mining ». En effet, le PE stœchiométrique, semblait plutôt déclenché par les composés à poids moléculaire élevés dont les résidus de riz étaient majoritairement composés. A l'inverse le carbone soluble comme le glucose ou comme la part soluble du blé (plus importante que celle du riz) générait plutôt un PE par « nutrient mining ».

Dans cette même étude, nous avons pu observer qu'il existait une interaction entre l'effet de la qualité de la MOF, celui de la MOS et celui de la teneur en nutriments N et P, sur le type de PE généré et son intensité. Nous en avons déduit que la qualité de la MOS déterminait la taille des guildes fonctionnelles de microorganismes tandis que la nature de la MOF activeraient prioritairement soit les décomposeurs soit les mineurs et déterminerait le processus de génération du PE. La teneur en nutriments du sol déterminerait l'amplitude de chacun des processus en fonction de ses besoins.

#### III. Les déterminants distaux

Dans la littérature, les déterminants distaux du PE ont principalement été étudiés dans les milieux tempérés (Kuzyakov *et al.*, 2000; Blagodatskaya *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2014; Cardinael *et al.*, 2015). Parmi ces déterminants distaux, la littérature a montré que le climat pouvait indirectement influencer la minéralisation et le PE en dirigeant la communauté microbienne du sol et son activité (Ghee *et al.*, 2013; Blagodatskaya *et al.*, 2016). Les pratiques agricoles, comme le labour, l'apport de compost ou les différentes cultures, et l'historique d'utilisation des terres ont des répercussions sur l'état physico-chimique des sols et sur leurs communautés microbiennes (Pascault *et al.*, 2010; Lienhard, Terrat, Mathieu, *et al.*, 2013; Lienhard, Terrat, Prévost-Bouré, *et al.*, 2013). Dans ce travail de thèse nous nous sommes attelés à identifier les effets du climat et des pratiques agricoles dans des Ferralsols malgaches, en étudiant les répercussions de la température, de la pluviométrie et des pratiques agricoles sur la quantité et la qualité de la MOS, la disponibilité en nutriments et la biomasse microbienne.

Le tableau 3 regroupe les déterminants distaux du PE identifié dans nos différentes études.
ETUDE	EXPERIENCE SUR LES DETERMINANTS CLIMATIQUES	EXPERIENCE SUR LES TYPES DE SOLS ET LES QUALITES DE MOF	EXPERIENCE SUR LES DETERMINANTS AGRICOLES		
DETERMINANTS DISTAUX DU PE STOECHIOMETRIQUE	faible température ; faible pluviométrie	ND	apport de compost ; non labour		
DETERMINANTS DISTAUX DU PE VIA « NUTRIENT MINING »	forte température	ND	N.D.		

Tableau 3 : Déterminants distaux des deux processus de génération du Pe dans chacunes des 3 études

### III.1. Le climat

Dans notre première étude (chapitre II), la distribution des sols de savane sur trois gradients climatiques nous a permis de dissocier les effets de la température et de la pluviométrie annuelle sur les minéralisations des MO et le PE. La minéralisation basale de la MOS était négativement corrélée à la température. Si on transpose nos observations dans un contexte de réchauffement climatique, cette relation négative confirme ainsi l'adaptation thermique de la réponse de l'activité de la communauté microbienne observée dans la littérature (Luo et al., 2001; Razavi et al., 2016). La température était positivement corrélée à l'état d'évolution de la MOS et a entrainé la réduction du pool de MOS de haute qualité. De plus, la température était négativement corrélée à la biomasse microbienne et à la taille des guildes des opportunistes et des décomposeurs. Enfin le PE stœchiométrique et celui généré par « nutrient mining » étaient tous les deux respectivement corrélés négativement et positivement à la température annuelle. Nous en avons déduit que dans les climats tropicaux d'altitude, où il fait moins chaud, la décomposition de la MOS devrait ralentie tandis que les apports de la production primaire augmenteraient. La MOS peu évoluée s'accumulerait dans les sols entretenant ainsi la guilde des décomposeurs. Les décomposeurs étant plus compétitifs que les mineurs pour l'accès à la MOF apportée, cette MOF va plutôt générer un PE de type stœchiométrique. A l'inverse, dans les climats plus chauds, en bas des Hauts plateaux, la décomposition plus rapide de la MO associée à une production primaire plus faible entrainerait l'épuisement rapide de la MOS à fort C:N. Cette MOS peu évoluée n'entretiendrait plus cette guilde des décomposeurs. Les populations de décomposeurs devant se reconstituer à chaque nouvel apport de MOF, laisseraient ainsi aux mineurs un accès plus facile à la MOF apportée.

Cette étude a également montré que la pluviométrie annuelle était négativement corrélée aux premières étapes de la minéralisation du résidu de blé apporté pour générer le PE. Nous avons attribué ça à la teneur en phosphate moins disponible dans les sols recevant plus d'eau et donc plus altérés, et au pH moins acide qui aurait pu influencer l'activité des enzymes extracellulaires. Nous avons retrouvé ces mêmes facteurs limitant la minéralisation de notre paille de blé dans les études suivantes (P disponible : chapitre III ; pH : chapitre IV). Dans cette première étude, nous en avons déduit que la pluviométrie annuelle pouvait donc indirectement contrôler le déclenchement du PE stœchiométrique par son effet sur le début de la minéralisation d'un résidu frais. Toutefois, il se peut que cet effet ne soit lié qu'à la nature du résidu apporté. En effet, dans la deuxième étude (chapitre III), nous avons fait varier la qualité du substrat générateur (glucose, paille de blé, paille de riz). Or la minéralisation du résidu de paille de riz n'était pas reliée à la disponibilité en phosphore comme l'était celle du résidu de blé. Peut-être que la pluviométrie annuelle n'aurait pas eu d'effet sur la minéralisation de ce résidu.

#### III.2. Les usages et pratiques agricoles

Dans notre dernière étude (chapitre IV), nous avons comparé les pratiques traditionnelles des agriculteurs et les pratiques agroécologiques que l'ONG AgriSud tente de diffuser dans la région Itasy des Hautes Terres au travers tout d'abord de la conversion de parcelles de cultures vivrières en parcelles d'agroforesterie et de zones de Bozaka (savane) en parcelles reforestées. Dans cette région agricole, la gestion de la fertilité des sols est traditionnellement axée autour de la gestion des différentes matières organiques produites au sein des exploitations, principalement résidus de culture et fumiers. Dans ce domaine, les pratiques agroécologiques enseignées par Agrisud sont basées sur le compostage des résidus organiques de la ferme plutôt que leur apport direct. Certaines ONG préconisent également le labour minimum pour réduire l'érosion des sols des tanety (petites collines) et augmenter le stockage de matière organique. Mais Agrisud conseille plutôt à ses cultivateurs la mise en place de structures anti-érosion comme des talus ou des haies végétales. Les parcelles non labourées, que nous avons échantillonnées, correspondaient donc à des parcelles mises en jachère, et non à des parcelles en agriculture de conservation. Nous avons montré dans les deux premières études (chapitre

Il et III) que le PE stœchiométrique est bien une stimulation de la minéralisation d'une matière organique jeune sous l'effet d'un apport de MO encore plus frais. Ce processus devrait donc bien contribuer à accélérer la voie de l'humification dans les sols et donc à long terme l'augmentation du stock de MO stabilisée et riche en nutriments. L'objectif de cette dernière étude était donc de voir l'effet des pratiques agroécologiques conseillées par Agrisud sur le PE stœchiométrique et ses acteurs microbiens.

Nous avons tout d'abord observé que la présence des arbres dans les bozaka et les cultures n'avait qu'un faible impact sur la minéralisation basale de la MOS et sur le PE stœchiométrique, et tendait à les réduire (Chapitre IV, Fig.1). Il faut tout d'abord souligner que les arbres des parcelles échantillonnées étaient très jeunes. Il serait donc intéressant de voir si cette tendance se confirme dans des plantations plus âgées. Si c'était le cas, cela signifierait que l'agroforesterie permet d'augmenter le stockage du carbone dans la biomasse ligneuse mais ne favorise pas l'humification.

Nous avons ensuite observé que toutes les activités de minéralisation étaient fortement corrélées à la biomasse bactérienne mais les principaux acteurs composant les guildes fonctionnelles étaient principalement fongiques. Dans ces sols agricoles, la majorité des minéralisateurs seraient bactériens mais les populations fongiques auraient des rôles clés dans la décomposition des différentes MO. Ils pourraient donc être les principaux leviers à influencer pour contrôler le PE stœchiométrique.

Après avoir restreint notre jeu de données aux parcelles cultivées (excluant la foresterie et le bozaka), nous n'avons pratiquement pas trouvé de pratique agricole contrôlant directement les activités de minéralisation. De manière générale (Chapitre IV, Fig. 3), la minéralisation de la MOS (PE compris) était plutôt reliée à la biomasse microbienne (principalement composée de bactéries) et à une communauté fongique spécialiste (les décomposeurs de MOS). Ces microorganismes et leurs activités étaient favorisés par des sols argileux, humides, riches en matière organique et en azote minéral. Par contre une partie de la minéralisation du substrat générateur, en l'occurrence le même résidu de blé que dans les précédentes études, était reliée à une communauté fongique spécialiste, différente et plus diversifiée (les décomposeurs de MOF), et plutôt défavorisée par ces mêmes conditions ainsi que par des pH moins acides. Ces résultats rejoignent en partie ceux de la première étude sur sol de savane. En revanche, une autre part de la minéralisation du blé était également reliée positivement

aux argiles et au contenu du sol en MO. Nous avons suspecté que cette part pouvait être le résultat d'une phase de recharge énergétique des populations de mineurs en vue d'un futur priming par « nutrient mining ». Nous avons donc comparé l'effet des pratiques agroécologiques par rapport aux pratiques conventionnelles sur les conditions environnementales favorisant le PE.

Le labour était négativement corrélé à l'abondance relative des décomposeurs de MOS et influençait ainsi négativement la minéralisation de la MOS et le PE. Ainsi, même si ce n'est pas une pratique conseillée par notre ONG partenaire, l'extension du non-labour dans la région permettrait de favoriser une communauté microbienne spécialisée dans la décomposition des débris végétaux. Nous avons confirmé que l'apport de fumier, principal fertilisant utilisé par les agriculteurs malgaches, n'avait pas d'effet significatif sur le PE stœchiométrique et ainsi sur l'humification de la MO. A l'inverse, en augmentant le pH, il réduisait la minéralisation de la MOF par les communautés fongiques spécialisées. Il pourrait donc même avoir indirectement un effet négatif via la réduction du pool enzymatique libéré après l'arrivée d'un substrat frais. Par contre, l'apport de compost, principale pratique encouragée par l'ONG AgriSud, entrainait un apport d'azote biodisponible, améliorait l'humidité des sols et augmentait l'apport de POM, et la CEC du sol. Même si nous n'avons pas vu d'effet direct sur les paramètres microbiens, tout laisse à penser que cette pratique favoriserait la stabilisation de la MO. Cependant, le compost étant le produit d'une minéralisation microbienne et contenant ainsi une communauté microbienne capable de minéraliser une MOS évoluée, l'apport de compost pourrait également entrainer un PE via « nutrient mining ». En effet, l'apport de compost peut entrainer un changement de la composition phylogénétique de la communauté microbienne en faveur de mineurs (Fuerst, 1995). Toutefois, cette communauté, développée en phase de maturation du compost, arriverait également avec une MOE générée pendant le compostage. Cette MOE provenant du compost qui pourrait se substituer à la MOE du sol et donc réduire l'impact du « nutrient mining » sur le déstockage du carbone ancien. Il serait donc important d'étudier plus profondément l'effet de l'apport de compost sur les deux mécanismes générateurs de PE et sur la séquestration finale du C. L'apport de compost serait bénéfique pour le maintien, sur le long terme, des stocks de carbone dans les sols.

Dans la région d'Itasy, les cultures pluviales les plus nombreuses installées sur les tanety sont les tubercules (patates douces, taro, manioc). Les rotations sont couramment appliquées, malgré tout certaines pratiques traditionnelles perdurent. Les cultivateurs choisissent des parcelles assez fertiles et cultivent les tubercules en monocultures pendant la saison et la contre-saison, jusqu'à ce que la parcelle ne produise plus. Nous avons donc pu observer un effet direct de cette culture sur la teneur en C du sol et un effet sur le PE stœchiométrique. Lorsque nous avons différencié les cultures intensives de tubercules des rotations incluant des tubercules, nous avons vu que cet effet était uniquement lié à la culture intensive. L'introduction de rotation limitait donc l'effet de cette culture sur l'appauvrissement du sol. Nous avons pu également observer que la culture de céréales (riz, maïs, riz pluvial) avait un effet complémentaire de celle des légumineuses (haricots verts, voanjobory, arachide, haricot, petit pois) sur les déterminants biotiques et abiotiques du sol. La culture de céréales en contre-saison permettait d'apporter de la POM à la parcelle, favorisait les communautés d'opportunistes mais réduisait la biomasse microbienne totale et les décomposeurs de MOS ainsi que le PE stœchiométriques. A l'inverse, la culture de légumineuses semble apporter du NH4<sup>+</sup>, et favoriser la biomasse microbienne. Bien que cet effet ne soit pas significatif dans notre étude, il est bien connu des agronomes. L'association de ces deux cultures, fortement plébiscitée pendant la période culturale pour des raisons de facilitation entre plantes ou de complémentarité de niche vis à vis des nutriments, pourrait avoir également un effet bénéfique sur la séquestration du carbone même après la récolte.

### IV. Quelles sorties appliquées pour ce travail ?

Ce travail de compréhension des processus de minéralisation des MO, pourrait être poursuivi par l'élaboration d'indicateurs biologiques de l'équilibre entre séquestration et déstockage du carbone du sol. L'effet bénéfique d'une pratique agricole sur la séquestration de la MO évoluée nécessite plusieurs années avant d'être visualisée directement sur la base du contenu en C du sol. Nous espérions que chacun des processus de génération du PE (stœchiométrique vs « nutrient mining ») pourrait servir d'indicateur de la prédisposition du sol à séquestrer ou à déstocker. Malheureusement, nous n'avons pas vu d'effet direct des pratiques sur les minéralisations et le PE. Il est vrai que nous étions en milieu paysan, et non sur un essai agronomique. Chaque cultivateur applique ses pratiques avec sa propre

recette de l'ONG Agrisud (feuilles de bananiers, fumiers, paille et feuilles vertes) tandis que d'autres ne compostent que les feuilles vertes. Il est donc plus difficile de mettre en évidence des corrélations marquées sur seulement une quarantaine de parcelles.

De fait, mesurer l'abondance des différents acteurs microbiens présents dans les sols et impliqués dans les différents PE permettrait de savoir qui des décomposeurs ou des mineurs ont été favorisés par les conditions du sol et l'historique d'usage des terres et de climat. Dans un premier temps, il faudrait développer, en bioinformatique, des amorces spécifiques des groupes phylogénétiques fongiques impliqués dans les 2 mécanismes de PE. Il faudrait ensuite les faire synthétiser et les tester sur souches pures. Une fois au point, les amorces permettraient de quantifier les gènes de ces groupes, par PCR quantitative, pour calculer un ratio décomposeurs/mineurs permettant de caractériser l'équilibre entre PE stœchiométrique et PE via « nutrient mining ». Du côté bactérien, les Firmicutes, les Actinobactéries, les δ-Protéobactéries et les Acidobacteria 1 et 2 composaient la guilde des décomposeurs bactériens impliqués dans le PE stœchiométrique. Pour ces phyla les amorces ont été publiées et pourraient être déjà utilisées. L'identification des phyla composant la guilde des mineurs impliquée dans le PE via « nutrient mining » s'est démontrée plus complexe dans nos études. En effet, la composition de cette guilde présentait des phyla impliquées dans différentes guildes en fonction des études (tableau 1). De plus, nous n'avons pas étudié le PE par « nutrient mining » dans notre étude sur parcelles agricoles, et nous n'avons donc pas identifié les populations de mineurs dans les sols cultivés. Ainsi, dans un premier temps, il serait possible de développer un lot d'amorces ciblant les mineurs dans les sols non cultivés et un lot d'amorces ciblant les mineurs dans les sols agricoles mais qui nécessiterait une nouvelle étude. L'exploitation d'un tel indicateur est réalisable à Madagascar car nous avons mis en place durant cette thèse le matériel nécessaire à l'extraction d'ADN du sol et la PCR quantitative au sein d'un laboratoire de biologie moléculaire. Tout ce matériel technique est disponible, soit sur la plateforme interinstitutionnelle du Fofifa soit au Laboratoire des Radiolsotopes. Il serait également intéressant d'élargir les études des mécanismes de génération du PE dans les autres régions malgaches (ou dans d'autres régions tropicales) afin de pouvoir généraliser l'utilisation d'un tel indicateur à l'échelle du pays. Ainsi, cet indicateur, combiné avec les dosages des teneurs en nutriments (azote et phosphore) permettrait ainsi de prédire quel mécanisme de génération du PE serait déclenché par l'apport de résidus de

culture. Cela permettrait également de savoir quelles pratiques agricoles il faudrait réaliser pour influencer la composition de la communauté conformément aux résultats de Lienhard *et al.* (2014). Ainsi, nous pourrions diriger le turnover de la MOS vers un PE stœchiométrique pour augmenter les stocks de MOE ou vers un PE via « nutrient mining » pour libérer des nutriments dans la solution du sol.

En termes de pratiques agricoles, les résultats de ce travail permettent déjà de prodiguer des conseils aux acteurs de terrains. Tout d'abord, ils permettent de conforter l'ONG Agrisud dans sa détermination à faire adopter le compostage des fumiers de bovin à ses agriculteurs, plutôt que l'apport direct à la parcelle. Notre dernière étude a clairement montré que l'apport du compost présentait même à long terme de nombreux effets bénéfiques pour l'activité microbienne, tels que des apports à la fois de matières organiques particulaires (POM), d'azote (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) et une persistance de l'humidité du sol d'une saison culturale sur l'autre. D'autre part, nous pouvons aussi proposer de limiter le labour pour permettre de moins perturber l'établissement des communautés microbiennes responsables de la décomposition des MO jeunes. Associer les légumineuses et les céréales dans une même culture en saison et en contre-saison pourrait apporter au sol à la fois du C (résidus des pailles) ainsi que de l'azote nécessaire à l'intégration de ce carbone dans la biomasse microbienne plutôt qu'à sa perte par respiration. Sur toutes les parcelles échantillonnées seules deux présentaient ce type d'association, et en rotation avec des tubercules. Enfin, continuer l'effort d'intégration de la culture de tubercules dans des rotations et non en intensif, permettrait de limiter le déstockage de la MO lié à la faible fertilisation et à la forte perturbation du sol au moment de la récolte.

Un dernière pratique, suggérée par notre première étude (chapitre II) mériterait d'être expérimentée au champ. En effet, nous avions fait l'hypothèse que des apports répétés de MOF permettrait de maintenir une communauté de décomposeurs et donc de limiter l'accès des mineurs à la nouvelle MOF. Des apports répétés permettraient donc de favoriser le PE stœchiométriques par rapport au « nutrient mining ». Au lieu de laisser les résidus de la culture précédente à la parcelle, II faudrait donc essayer de les exporter et en rapporter régulièrement au cours de la saison de culture. Si ce sont des résidus ligno-cellulosiques, il faudrait les associer à des apports en résidus verts. Bien sûr, cette dernière proposition ne tient pas compte des contraintes sociales, liées à l'augmentation du travail de l'agriculteur.

132

Ces contraintes pourront être questionnées plus tard s'il s'avère que la périodicité des apports améliore nettement le turnover des communautés microbiennes et donc l'évolution des MO en vue de leur stabilisation à long termes dans le sol.

## **Références bibliographiques**

- Adhikari, K. and Hartemink, A.E. (2016) Linking soils to ecosystem services A global review. *Geoderma* **262**: 101–111.
- Agren, G.I. (2010) CLIMATE CHANGE Microbial mitigation. Nat. Geosci. 3: 303–304.
- Ainsworth, E.A., Long, S.P. (2005) What have we learned from 15 years of free-air CO2 enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO<sub>2</sub>. *New Phytol.* **165**: 351–372.
- Allen, A.P. and Gillooly, J.F. (2009) Towards an integration of ecological stoichiometry and the metabolic theory of ecology to better understand nutrient cycling. *Ecol. Lett.* **12**: 369–384.
- Allison, S.D., Wallenstein, M.D., and Bradford, M.A. (2010) Soil-carbon response to warming dependent on microbial physiology. *Nat. Geosci.* **3**: 336–340.
- Altieri, M.A., Nicholls, C.I., Henao, A., and Lana, M.A. (2015) Agroecology and the design of climate change-resilient farming systems. *Agron. Sustain. Dev.* **35**: 869–890.
- Amer F, Bouldin DR, Black CA, Duke FR. (1955). Characterization of soil phosphorus by anion exchange resin adsorption and P32-equilibration. *Plant Soil* **6**: 391–408.
- Anderson, I.C. and Cairney, J.W.G. (2004) Diversity and ecology of soil fungal communities: increased understanding through the application of molecular techniques. *Environ. Microbiol.* **6**: 769–779.
- Andrianjafy Andriamanindrisoa, E. (2004) Economie populaire, territoires et développement à Madagascar: les dimensions historiques, économiques et socioculturelles du fokonolona. Etudes de cas: la commune rurale de Masindray et la commune urbaine d'Anosibe.
- Andriarimalala JH, Rakotozandriny JN, Andriamandroso ALH *et al.* (2013) CREATING SYNERGIES BETWEEN CONSERVATION AGRICULTURE AND CATTLE PRODUCTION IN CROP–LIVESTOCK FARMS: A STUDY CASE IN THE LAKE ALAOTRA REGION OF MADAGASCAR. *Exp Agric*0 **49**:352–65.
- Barrow NJ. (2017) The effects of pH on phosphate uptake from the soil. *Plant Soil*. **410**:401–10.
- Barton, H.A., Giarrizzo, J.G., Suarez, P., Robertson, C.E., Broering, M.J., Banks, E.D., et al. (2014)
   Microbial diversity in a Venezuelan orthoquartzite cave is dominated by the Chloroflexi
   (Class Ktedonobacterales) and Thaumarchaeota Group I.1c. *Front. Microbiol.* 5:.

- Batjes, N. h. and Sombroek, W. g. (1997) Possibilities for carbon sequestration in tropical and subtropical soils. *Glob. Change Biol.* **3**: 161–173.
- Becquer T, Pétard J, Duwig C, Bourdon E, Moreau R, Herbillon AJ. (2001). Mineralogical, chemical and charge properties of Geric Ferralsols from New Caledonia. *Geoderma* 103: 291-306.
- Bell, J.M., Smith, J.L., Bailey, V.L., Bolton, H. (2003) Priming effect and C storage in semi-arid no-till spring crop rotations. *Biol. Fertil. Soils*. **37**: 237–244.
- Bengtson, P., Barker, J., and Grayston, S.J. (2012) Evidence of a strong coupling between root exudation, C and N availability, and stimulated SOM decomposition caused by rhizosphere priming effects. *Ecol. Evol.* 2: 1843–1852.
- Bernard, L., Mougel, C., Maron, P.-A., Nowak, V., Lévêque, J., Henault, C., et al. (2007)
   Dynamics and identification of soil microbial populations actively assimilating carbon
   from 13C-labelled wheat residue as estimated by DNA- and RNA-SIP techniques.
   *Environ. Microbiol.* 9: 752–764.
- Bernard, L., Maron, P.A., Mougel, C., Nowak, V., Lévêque, J., Marol, C., et al. (2009)
   Contamination of Soil by Copper Affects the Dynamics, Diversity, and Activity of Soil
   Bacterial Communities Involved in Wheat Decomposition and Carbon Storage. *Appl. Environ. Microbiol.* **75**: 7565–7569.
- Bernard, L., Chapuis-Lardy, L., Razafimbelo, T., Razafindrakoto, M., Pablo, A.-L., Legname, E., et al. (2012) Endogeic earthworms shape bacterial functional communities and affect organic matter mineralization in a tropical soil. *ISME J.* **6**: 213–222.
- Bedoussac L, Journet E-P, Hauggaard-Nielsen H *et al.* (2015) Ecological principles underlying the increase of productivity achieved by cereal-grain legume intercrops in organic farming. A review. *Agron Sustain Dev.* **35**:911–35.
- Bingeman, C.W., Varner, J.E., and Martin, W.P. (1953) The Effect of the Addition of Organic Materials on the Decomposition of an Organic Soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **17**: 34–38.
- Bityutskii, N.P., Maiorov, E.I., and Orlova, N.E. (2012) The priming effects induced by earthworm mucus on mineralization and humification of plant residues. *Eur. J. Soil Biol.* 50: 1–6.
- Blagodatskaya, E.V., Blagodatsky, S.A., Anderson, T.-H., and Kuzyakov, Y. (2007) Priming effects in Chernozem induced by glucose and N in relation to microbial growth strategies. *Appl. Soil Ecol.* **37**: 95–105.

- Blagodatskaya, E. and Kuzyakov, Y. (2008) Mechanisms of real and apparent priming effects and their dependence on soil microbial biomass and community structure: critical review. *Biol. Fertil. Soils* **45**: 115–131.
- Blagodatskaya, E.V., Blagodatsky, S.A., Anderson, T.-H., and Kuzyakov, Y. (2009) Contrasting effects of glucose, living roots and maize straw on microbial growth kinetics and substrate availability in soil. *Eur. J. Soil Sci.* **60**: 186–197.
- Blagodatskaya, E., Yuyukina, T., Blagodatsky, S., and Kuzyakov, Y. (2011) Three-sourcepartitioning of microbial biomass and of CO2 efflux from soil to evaluate mechanisms of priming effects. *Soil Biol. Biochem.* **43**: 778–786.
- Blagodatskaya E, Khomyakov N, Myachina O, Bogomolova I, Blagodatsky S, Kuzyakov Y. (2014).
   Microbial interactions affect sources of priming induced by cellulose. *Soil Biol Biochem* 74: 39–49.
- Blagodatskaya, E., Blagodatsky, S., Khomyakov, N., Myachina, O., and Kuzyakov, Y. (2016) Temperature sensitivity and enzymatic mechanisms of soil organic matter decomposition along an altitudinal gradient on Mount Kilimanjaro. *Sci. Rep.* **6**:.
- Blagodatsky, S.A. and Richter, O. (1998) Microbial growth in soil and nitrogen turnover: a theoretical model considering the activity state of microorganisms. *Soil Biol. Biochem.* **30**: 1743–1755.
- Blagodatsky, S.A., Yevdokimov, I.V., Larionova, A.A., and Richter, J. (1998) Microbial growth in soil and nitrogen turnover: Model calibration with laboratory data. *Soil Biol. Biochem.* **30**: 1757–1764.
- Blagodatsky, S., Blagodatskaya, E., Yuyukina, T., and Kuzyakov, Y. (2010) Model of apparent and real priming effects: Linking microbial activity with soil organic matter decomposition. *Soil Biol. Biochem.* **42**: 1275–1283.
- de Boer W, Folman LB, Summerbell RC, Boddy L. (2005). Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. *Fems Microbiol Rev* **29**: 795–811.
- Bonkowski M, Griffiths BS, Scrimgeour C. (2000). Substrate heterogeneity and microfauna in soil organic 'hotspots' as determinants of nitrogen capture and growth of rye-grass. *Appl Soil Ecol* **14:** 37–53.
- Bonkowski, M. (2004) Protozoa and plant growth: the microbial loop in soil revisited. *New Phytol.* **162**: 617–631.

- Borneman, J., Skroch, P.W., O'Sullivan, K.M., Palus, J.A., Rumjanek, N.G., Jansen, J.L., et al. (1996) Molecular microbial diversity of an agricultural soil in Wisconsin. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 1935–1943.
- Bradford, M.A., Fierer, N., Reynolds, J.F. (2008) Soil carbon stocks in experimental mesocosms are dependent on the rate of labile carbon, nitrogen and phosphorus inputs to soils. *Funct. Ecol.* **22**: 964–974.
- Bradford, M.A., Wieder, W.R., Bonan, G.B., Fierer, N., Raymond, P.A., and Crowther, T.W. (2016) Managing uncertainty in soil carbon feedbacks to climate change. *Nat. Clim. Change* 6: 751–758.
- Breemen N van, Mulder J, Driscoll CT. (1983). Acidification and alkalinization of soils. *Plant Soil* **75**: 283–308.
- Bridge, P. and Spooner, B. (2001) Soil fungi: diversity and detection. *Plant Soil* 232: 147–154.
- Broadbent, F.E. and Norman, A.G. (1947) Some factors affecting the availability of the organic nitrogen in soil—a preliminary report. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **11**: 264–267.
- Bronick, C.J. and Lal, R. (2005) Soil structure and management: a review. *Geoderma* **124**: 3–22.
- Brookes, P.C., Cayuela, M.L., Contin, M., De Nobili, M., Kemmitt, S.J., Mondini, C. (2008) The mineralisation of fresh and humified soil organic matter by the soil microbial biomass. *Waste Manag.* **28**:716–722.
- Buckley, D.H., Huangyutitham, V., Nelson, T.A., Rumberger, A., and Thies, J.E. (2006) Diversity of Planctomycetes in Soil in Relation to Soil History and Environmental Heterogeneity. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**: 4522–4531.
- Bulluck III LR, Brosius M, Evanylo GK et al. (2002) Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. *Appl Soil Ecol.* **19**:147–60.
- Calvet R, Barriuso E, Dubus IG. (2007). Application of two surface complexation models to the adsorption of weak organic acids by soil: an additive approach. *European Journal of Soil Science* **58**: 609-624.
- Campo J, Merino A. (2016). Variations in soil carbon sequestration and their determinants along a precipitation gradient in seasonally dry tropical forest ecosystems. *Glob Change Biol* **22**: 1942–1956.
- Campoamor J-N, Molina J-A. (2001) Diversity of Tricholomataceae along a mediterranean altitudinal gradient. *Cryptogam Mycol.* **22**:175–84.

- Cardenas, E. and Tiedje, J.M. (2008) New tools for discovering and characterizing microbial diversity. *Curr. Opin. Biotechnol.* **19**: 544–549.
- Cardinael, R., Eglin, T., Guenet, B., Neill, C., Houot, S., and Chenu, C. (2015) Is priming effect a significant process for long-term SOC dynamics? Analysis of a 52-years old experiment. *Biogeochemistry* **123**: 203–219.
- Chávez, E.S., Muñoz, E., Anchondo, Á., Ruiz, J.M., and Romero, L. (2009) Nitrogen impact on nutritional status of Phosphorus and its main bioindicator: response in the roots and leaves of green bean plants. *Rev. Chapingo Ser. Hortic.* **15**: 177–182.
- Chander K, Goyal S, Nandal DP *et al.* (1998) Soil organic matter, microbial biomass and enzyme activities in a tropical agroforestry system. *Biol Fertil Soils*. **27**:168–72.
- Chen, R., Senbayram, M., Blagodatsky, S., Myachina, O., Dittert, K., Lin, X., et al. (2014) Soil C and N availability determine the priming effect: microbial N mining and stoichiometric decomposition theories. *Glob. Change Biol.* **20**: 2356–2367.
- Cheng, W. (2009) Rhizosphere priming effect: Its functional relationships with microbial turnover, evapotranspiration, and C–N budgets. *Soil Biol. Biochem.* **41**: 1795–1801.
- Chowdhury, S., Farrell, M., Bolan, N. (2014) Priming of soil organic carbon by malic acid addition is differentially affected by nutrient availability. *Soil Biol. Biochem.* **77**: 158–169.
- Christensen M. (1989) A View of Fungal Ecology. Mycologia. 81: 1–19.
- Ciesielski H, Sterckeman T, Santerne M, Willery JP. (1997). Determination of cation exchange capacity and exchangeable cations in soils by means of cobalt hexamine trichloride. Effects of experimental conditions. *Agronomie* **17**: 1–7.
- Cleveland, C.C. and Liptzin, D. (2007) C : N : P stoichiometry in soil: is there a "Redfield ratio" for the microbial biomass? *Biogeochemistry* **85**: 235–252.
- Cotrufo, M.F., Wallenstein, M.D., Boot, C.M., Denef, K., and Paul, E. (2013) The Microbial Efficiency-Matrix Stabilization (MEMS) framework integrates plant litter decomposition with soil organic matter stabilization: do labile plant inputs form stable soil organic matter? *Glob. Change Biol.* **19**: 988–995.
- Crowther, T.W., Thomas, S.M., Maynard, D.S., Baldrian, P., Covey, K., Frey, S.D., et al. (2015) Biotic interactions mediate soil microbial feedbacks to climate change. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **112**: 7033–7038.

- Crowther, T.W., Todd-Brown, K.E.O., Rowe, C.W., Wieder, W.R., Carey, J.C., Machmuller, M.B., et al. (2016) Quantifying global soil carbon losses in response to warming. *Nature* **540**: 104–108.
- Dalenberg, J.W. and Jager, G. (1989) Priming effect of some organic additions to 14C-labelled soil. *Soil Biol. Biochem.* **21**: 443–448.
- Davidson EA, Janssens IA. (2006). Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature* **440**: 165–173.
- Davis KER, Sangwan P, Janssen PH. (2011). Acidobacteria, Rubrobacteridae and Chloroflexi are abundant among very slow-growing and mini-colony-forming soil bacteria. *Environ Microbiol* **13**: 798–805.
- Deacon, L.J., Janie Pryce-Miller, E., Frankland, J.C., Bainbridge, B.W., Moore, P.D., and Robinson, C.H. (2006) Diversity and function of decomposer fungi from a grassland soil. *Soil Biol. Biochem.* **38**: 7–20.
- DeBruyn, J.M., Nixon, L.T., Fawaz, M.N., Johnson, A.M., and Radosevich, M. (2011) Global Biogeography and Quantitative Seasonal Dynamics of Gemmatimonadetes in Soil. *Appl. Environ. Microbiol.* **77**: 6295–6300.
- Dequiedt S, Saby NPA, Lelievre M, Jolivet C, Thioulouse J, Toutain B, *et al.* (2011). Biogeographical patterns of soil molecular microbial biomass as influenced by soil characteristics and management. *Glob Ecol Biogeogr* **20**: 641-652.
- Dequiedt, S., Saby, N.P.A., Lelievre, M., Jolivet, C., Thioulouse, J., Toutain, B., et al. (2011) Biogeographical patterns of soil molecular microbial biomass as influenced by soil characteristics and management. *Glob. Ecol. Biogeogr.* **20**: 641–652.
- Dequiedt, S., Thioulouse, J., Jolivet, C., Saby, N.P.A., Lelievre, M., Maron, P.-A., et al. (2009) Biogeographical patterns of soil bacterial communities. *Environ. Microbiol. Rep.* 1: 251–255.
- Derrien, D., Plain, C., Courty, P.-E., Gelhaye, L., Moerdijk-Poortvliet, T.C.W., Thomas, F., et al. (2014) Does the addition of labile substrate destabilise old soil organic matter? *Soil Biol. Biochem.* 76: 149–160.
- Derrien D., Dignac M-F., Basile-Doelsch I., Barot S., Cécillon L., Chenu C., Chevallier T., Freschet
  G. T., Garnier P., Guenet B., Hedde M., Klumpp K., Lashermes G., Maron P-A., Nunan
  N., Roumet C. et Barré P. (2016) Stocker du C dans les sols : quels mécanismes, quelles
  pratiques agricoles, quels indicateurs ? Étude et Gestion des Sols. 23 (1): 193-224

- Dijkstra, F.A., Bader, N.E., Johnson, D.W., and Cheng, W. (2009) Does accelerated soil organic matter decomposition in the presence of plants increase plant N availability? *Soil Biol. Biochem.* **41**: 1080–1087.
- Dijkstra, F.A., Carrillo, Y., Pendall, E., and Morgan, J.A. (2013) Rhizosphere priming: a nutrient perspective. *Front. Microbiol.* **4**: 216.
- Ding, G.-C., Piceno, Y.M., Heuer, H., Weinert, N., Dohrmann, A.B., Carrillo, A., et al. (2013) Changes of Soil Bacterial Diversity as a Consequence of Agricultural Land Use in a Semi-Arid Ecosystem. *PLOS ONE* **8**: e59497.
- Dominati, E., Patterson, M., and Mackay, A. (2010) A framework for classifying and quantifying the natural capital and ecosystem services of soils. *Ecol. Econ.* **69**: 1858–1868.
- Dorodnikov, M., Blagodatskaya, E., Blagodatsky, S., Marhan, S., Fangmeier, A., and Kuzyakov,
   Y. (2009) Stimulation of microbial extracellular enzyme activities by elevated CO2 depends on soil aggregate size. *Glob. Change Biol.* 15: 1603–1614.
- Duchaufour, P., Souchier, B. and Bonneau, M. (1991) Pédologie. Tome 2 : Constituants et propriétés du sol. Edition Masson (Paris-FRA): 459p
- Dungait, J.A.J., Hopkins, D.W., Gregory, A.S., and Whitmore, A.P. (2012) Soil organic matter turnover is governed by accessibility not recalcitrance. *Glob. Change Biol.* **18**: 1781– 1796.
- Eilers KG, Lauber CL, Knight R, Fierer N. (2010). Shifts in bacterial community structure associated with inputs of low molecular weight carbon compounds to soil. *Soil Biol Biochem* **42**: 896–903.
- Ekelund F, Rønn R. (1994). Notes on protozoa in agricultural soil with emphasis on heterotrophic flagellates and naked amoebae and their ecology. *FEMS Microbiol Rev* 15: 321-353.
- Eliasson PE, McMurtrie RE, Pepper DA, Strömgren M, Linder S, Ågren GI. (2005). The response of heterotrophic CO2 flux to soil warming. *Glob Change Biol* **11**: 167–181.
- Erhart, H. (1926). La concentration en ions hydrogène dans quelques terres latéritiques de Madagascar. *Revue de botanique appliquée et d'agriculture coloniale*, **6(54)**: 88-92.
- FAO (2002) World Agriculture: Towards 2015/2030. Summary Report. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy, 97 pp.
- FAO (2015) L'agroécologie pour la sécurité alimentaire et l'alimentation. Compte-rendu du Symposium international de la FAO. 18-19 septembre 2014, Rome, Italie.

- Feller, C. Beare, M.H. (1997) Physical control of soil organic matter dynamics in the tropics. *Geoderma*. **79**: 69–116.
- Feller, C., Blanchart, E., Herbillon, A., Leprun, J. C., & Poss, R. (2007). L'importance des recherches coloniales, en particulier à Madagascar dans le développement de la pédologie française. *Etude et Gestion des Sols*, **14(4)**: 305-315.
- Ferguson BJ, Indrasumunar A, Hayashi S *et al.* (2010) Molecular Analysis of Legume Nodule Development and Autoregulation. *J Integr Plant Biol.* **52**: 61–76.
- Fierer, N. and Jackson, R.B. (2006) The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **103**: 626–631.
- Fierer, N., Bradford, M.A., and Jackson, R.B. (2007) Toward an Ecological Classification of Soil Bacteria. *Ecology* 88: 1354–1364.
- Fierer, N., Breitbart, M., Nulton, J., Salamon, P., Lozupone, C., Jones, R., et al. (2007) Metagenomic and Small-Subunit rRNA Analyses Reveal the Genetic Diversity of Bacteria, Archaea, Fungi, and Viruses in Soil. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**: 7059–7066.
- Fierer, N., Strickland, M.S., Liptzin, D., Bradford, M.A., and Cleveland, C.C. (2009) Global patterns in belowground communities. *Ecol. Lett.* **12**: 1238–1249.
- Fierer N, Lauber CL, Ramirez KS, Zaneveld J, Bradford MA, Knight R. (2012). Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients. *ISME J* **6**: 1007–1017.
- Foesel BU, Rohde M, Overmann J. (2013). Blastocatella fastidiosa gen. nov., sp. nov., isolated from semiarid savanna soil The first described species of Acidobacteria subdivision
  4. Syst Appl Microbiol 36: 82–89.
- Foesel BU, Nägele V, Naether A, Wüst PK, Weinert J, Bonkowski M, *et al.* (2014). Determinants of Acidobacteria activity inferred from the relative abundances of 16S rRNA transcripts in German grassland and forest soils. *Environ Microbiol* **16**: 658–675.
- Fontaine, S., Mariotti, A., and Abbadie, L. (2003) The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biol. Biochem.* **35**: 837–843.
- Fontaine, S., Bardoux, G., Benest, D., Verdier, B., Mariotti, A., and Abbadie, L. (2004)
   Mechanisms of the Priming Effect in a Savannah Soil Amended with Cellulose. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68: 125–131.
- Fontaine, S. and Barot, S. (2005) Size and functional diversity of microbe populations control plant persistence and long-term soil carbon accumulation. *Ecol. Lett.* **8**: 1075–1087.

- Fontaine, S., Barot, S., Barré, P., Bdioui, N., Mary, B., and Rumpel, C. (2007) Stability of organic carbon in deep soil layers controlled by fresh carbon supply. *Nature* **450**: 277–280.
- Fontaine, S., Henault, C., Aamor, A., Bdioui, N., Bloor, J.M.G., Maire, V., et al. (2011) Fungi mediate long term sequestration of carbon and nitrogen in soil through their priming effect. *Soil Biol. Biochem.* **43**: 86–96.
- Freibauer, A., Rounsevell, M.D.A., Smith, P., and Verhagen, J. (2004) Carbon sequestration in the agricultural soils of Europe. *Geoderma* **122**: 1–23.
- Frey, S.D., Lee, J., Melillo, J.M., and Six, J. (2013) The temperature response of soil microbial efficiency and its feedback to climate. *Nat. Clim. Change* **3**: 395–398.
- Frøseth RB, Bleken MA. (2015). Effect of low temperature and soil type on the decomposition rate of soil organic carbon and clover leaves, and related priming effect. *Soil Biol Biochem* 80: 156–166.
- Fuerst, J.A. (1995) The planctomycetes: emerging models for microbial ecology, evolution and cell biology. *Microbiology* 141: 1493–1506.
- Garrity, G.M., Bell, J.A., and Lilburn, T. (2005) Class I. Alphaproteobacteria class. nov. In, Brenner,D.J., Krieg,N.R., and Staley,J.T. (eds), *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*. Springer US, pp. 1–574.
- Gao Q, Schwartz MW, Zhu W, Wan Y, Qin X, Ma X, *et al.* (2016). Changes in Global Grassland Productivity during 1982 to 2011 Attributable to Climatic Factors. *Remote Sens* **8**: 384.
- Garten, C.T.G., Classen, A.T., and Norby, R.J. (2008) Soil moisture surpasses elevated CO2 and temperature as a control on soil carbon dynamics in a multi-factor climate change experiment. *Plant Soil* **319**: 85–94.
- Gavinelli, E., Feller, C., Larré-Larrouy, M.C., Bacye, B., Djegui, N., Nzila, J. de D. (1995) A routine method to study soil organic matter by particle-size fractionation: Examples for tropical soils. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **26**: 1749–1760.
- Ge Y, Zhang J, Zhang L *et al.* (2008) Long-term fertilization regimes affect bacterial community structure and diversity of an agricultural soil in northern China. *J Soils Sediments*. **8**: 43–50
- Geyer KM, Kyker-Snowman E, Grandy AS, Frey SD. (2016). Microbial carbon use efficiency: accounting for population, community, and ecosystem-scale controls over the fate of metabolized organic matter. *Biogeochem* **127**:173–188.

- Ghee, C., Neilson, R., Hallett, P.D., Robinson, D., and Paterson, E. (2013) Priming of soil organic matter mineralisation is intrinsically insensitive to temperature. *Soil Biol. Biochem.* 66: 20–28.
- van Groenigen K-J, Bloem J, Bååth E *et al.* (2010) Abundance, production and stabilization of microbial biomass under conventional and reduced tillage. *Soil Biol Biochem*. **42**: 48–55.
- Griffiths BS. (1994). Microbial-feeding nematodes and protozoa in soil: Their effects on microbial activity and nitrogen mineralization in decomposition hotspots and the rhizosphere. *Plant Soil* 164: 25-33.
- Guenet, B., Danger, M., Abbadie, L., and Lacroix, G. (2010) Priming effect: bridging the gap between terrestrial and aquatic ecology. *Ecology* **91**: 2850–2861.
- Guenet, B., Leloup, J., Raynaud, X., Bardoux, G., Abbadie, L. (2010) Negative priming effect on mineralization in a soil free of vegetation for 80 years. *Eur. J. Soil Sci.* **61**: 384–391.
- Guenet, B., Juarez, S., Bardoux, G., Abbadie, L., and Chenu, C. (2012) Evidence that stable C is as vulnerable to priming effect as is more labile C in soil. *Soil Biol. Biochem.* **52**: 43–48.
- Guo, L.B. and Gifford, R.M. (2002) Soil carbon stocks and land use change: a meta analysis. *Glob. Change Biol.* **8**: 345–360.
- Hagerty, S.B., van Groenigen, K.J., Allison, S.D., Hungate, B.A., Schwartz, E., Koch, G.W., et al.
  (2014) Accelerated microbial turnover but constant growth efficiency with warming in soil. *Nat. Clim. Change* 4: 903–906.
- Hartley, I.P., Heinemeyer, A., and Ineson, P. (2007) Effects of three years of soil warming and shading on the rate of soil respiration: substrate availability and not thermal acclimation mediates observed response. *Glob. Change Biol.* **13**: 1761–1770.
- Hättenschwiler, S., Fromin, N., and Barantal, S. (2011) Functional diversity of terrestrial microbial decomposers and their substrates. *C. R. Biol.* **334**: 393–402.
- Heimann M, Reichstein M. (2008). Terrestrial ecosystem carbon dynamics and climate feedbacks. *Nature* **451**: 289–292.
- Hendrix, P.F., Parmelee, R.W., Crossley, D.A., Coleman, D.C., Odum, E.P., and Groffman, P.M. (1986) Detritus food webs in conventional and no-tillage agroecosystems. *Bioscience* 36: 374–380.
- Hijmans RJ, Cameron SE, Parra JL, Jones PG, Jarvis A. (2005). Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *Int J Climatol* **25**: 1965–1978.

- Hibbett, D.S., Binder, M., Bischoff, J.F., Blackwell, M., Cannon, P.F., Eriksson, O.E., et al. (2007)A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycol. Res.* 111: 509–547.
- Hill, G.T., Mitkowski, N.A., Aldrich-Wolfe, L., Emele, L.R., Jurkonie, D.D., Ficke, A., et al. (2000)
   Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities.
   *Appl. Soil Ecol.* 15: 25–36.

http://4p1000.org/

- Hug, L.A., Castelle, C.J., Wrighton, K.C., Thomas, B.C., Sharon, I., Frischkorn, K.R., et al. (2013)
   Community genomic analyses constrain the distribution of metabolic traits across the
   Chloroflexi phylum and indicate roles in sediment carbon cycling. *Microbiome* 1: 22.
- Hunt JF, Ohno T, He Z, Honeycutt CW, Dail CB. (2007). Inhibition of phosphorus sorption to goethite, gibbsite, and kaolin by fresh and decomposed organic matter. *Biol Fertil Soils*44: 277–288
- Imberger KT, Chiu C-Y. (2001). Spatial changes of soil fungal and bacterial biomass from a subalpine coniferous forest to grassland in a humid, sub-tropical region. *Biol Fertil Soils* **33**: 105–110.
- INSTAT (2013) Enquête nationale sur le suivi des objectifs du millénaire pour le développement à Madagascar. Objectif 01. 209p.
- International Statistics (2012) U.S. Census Bureau, Statistical Abstract of the United States. Table 1332
- IPCC (2013) Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group
   I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change
   [Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia,
   V. Bex and P.M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United
   Kingdom and New York, NY, USA, 1535 pp.
- IUSS Working Group WRB (2014) World reference base for soil resources 2014 international soil classification system. In: *World Soil Resources Reports*. **106** : 203 p.
- Jackson ML. (1958). Soil Chemical Analysis. Prentice Hall Inc.
- Janssen, P.H. (2006) Identifying the Dominant Soil Bacterial Taxa in Libraries of 16S rRNA and 16S rRNA Genes. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**: 1719–1728.
- Jenkinson, D.S., Fox, R.H., and Rayner, J.H. (1985) Interactions between fertilizer nitrogen and soil nitrogen—the so-called 'priming' effect. *J. Soil Sci.* **36**: 425–444.

- Jenkinson DS, Brookes PC, Powlson DS. (2004) Measuring soil microbial biomass. *Soil Biol Biochem*. **36**: 5–7.
- Jensen ES, Peoples MB, Boddey RM *et al.* (2012) Legumes for mitigation of climate change and the provision of feedstock for biofuels and biorefineries. A review. *Agron Sustain Dev.* 32: 329–64.
- Jing, Z., Chen, R., Wei, S., Feng, Y., Zhang, J., and Lin, X. (2017) Response and feedback of C mineralization to P availability driven by soil microorganisms. *Soil Biol. Biochem.* 105: 111–120.
- Joergensen, R.G. and Wichern, F. (2008) Quantitative assessment of the fungal contribution to microbial tissue in soil. *Soil Biol. Biochem.* **40**: 2977–2991.
- Johnson NC, Wedin DA. (1997). Soil Carbon, Nutrients, and Mycorrhizae During Conversion of Dry Tropical Forest to Grassland. *Ecol Appl* **7**: 171–182.
- Jónsson, J.Ö.G. and Davíðsdóttir, B. (2016) Classification and valuation of soil ecosystem services. *Agric. Syst.* **145**: 24–38.
- Jorquera MA, Hernández MT, Rengel Z, Marschner P, Mora M de la L. (2008). Isolation of culturable phosphobacteria with both phytate-mineralization and phosphate-solubilization activity from the rhizosphere of plants grown in a volcanic soil. *Biol Fertil Soils* **44**: 1025–1034.
- Jumpponen, A. and Johnson, L.C. (2005) Can rDNA Analyses of Diverse Fungal Communities in Soil and Roots Detect Effects of Environmental Manipulations: A Case Study from Tallgrass Prairie. *Mycologia* **97**: 1177–1194.
- Kallenbach, C.M., Grandy, A.S., Frey, S.D., and Diefendorf, A.F. (2015) Microbial physiology and necromass regulate agricultural soil carbon accumulation. *Soil Biol. Biochem.* **91**: 279–290.
- Kallenbach, C.M., Frey, S.D., and Grandy, A.S. (2016) Direct evidence for microbial-derived soil organic matter formation and its ecophysiological controls. *Nat. Commun.* **7**:.
- Kedi B, Abadie J, Sei J, Quiquampoix H, Staunton S. (2013). Diversity of adsorption affinity and catalytic activity of fungal phosphatases adsorbed on some tropical soils. *Soil Biol Biochem* 56: 13–20.
- Killham, K. and Prosser, J.I. (2007) 5 THE PROKARYOTES. In, Paul, E.A. (ed), *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry (Third Edition)*. Academic Press, San Diego, pp. 119–144.
- King, C.E. and King, G.M. (2014) Description of Thermogemmatispora carboxidivorans sp. nov., a carbon-monoxide-oxidizing member of the class Ktedonobacteria isolated from a

geothermally heated biofilm, and analysis of carbon monoxide oxidation by members of the class Ktedonobacteria. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **64**: 1244–1251.

- Kirk, P. M., Cannon, P. F., David, J. C., & Stalpers, J. A. (2008). Ainsworth & Bisbys. *Dictionary* of the Fungi. **60**.
- Kirkby, C.A., Richardson, A.E., Wade, L.J., Passioura, J.B., Batten, G.D., Blanchard, C., and Kirkegaard, J.A. (2014) Nutrient availability limits carbon sequestration in arable soils. *Soil Biol. Biochem.* 68: 402–409.
- Klappenbach JA, Dunbar JM, Schmidt TM. (2000). rRNA Operon Copy Number Reflects Ecological Strategies of Bacteria. *Appl Environ Microbiol* **66**: 1328–1333.
- Knicker, H. (2011) Soil organic N an under-rated player for C sequestration in soils? *Soil Biol. Amp Biochem.* **43**: 1118–1129.
- Knorr, W., Prentice, I.C., House, J.I., and Holland, E.A. (2005) Long-term sensitivity of soil carbon turnover to warming. *Nature* **433**: 298–301.
- Kögel-Knabner, I. (2002) The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biol. Biochem.* **34**: 139–162.
- Kouno K, Tuchiya Y, Ando T. (1995). Measurement of Soil Microbial Biomass Phosphorus by an Anion-Exchange Membrane Method. *Soil Biol Biochem* **27**: 1353–1357.
- Krause, S., Le Roux, X., Niklaus, P.A., Bodegom, V., M, P., Lennon, J.T., et al. (2014) Trait-based approaches for understanding microbial biodiversity and ecosystem functioning.
   *Front. Microbiol.* 5:.
- Kuramae, E.E., Yergeau, E., Wong, L.C., Pijl, A.S., Veen, V., A, J., and Kowalchuk, G.A. (2012)
   Soil characteristics more strongly influence soil bacterial communities than land-use type. *FEMS Microbiol. Ecol.* **79**: 12–24.
- Kurzatkowski D, Martius C, Höfer H *et al.* (2004) Litter decomposition, microbial biomass and activity of soil organisms in three agroforestry sites in central Amazonia. *Nutr Cycl Agroecosystems*. **69**: 257–67.
- Kuske, C.R., Barns, S.M., and Busch, J.D. (1997) Diverse uncultivated bacterial groups from soils of the arid southwestern United States that are present in many geographic regions. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 3614–3621.
- Kuzyakov, Y., Friedel, J., and Stahr, K. (2000) Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biol. Biochem.* **32**: 1485–1498.

- Kuzyakov, Y. (2002) Review: Factors affecting rhizosphere priming effects. J. Plant Nutr. Soil Sci. 165: 382–396.
- Kuzyakov, Y. (2010) Priming effects: Interactions between living and dead organic matter. Soil Biol. Biochem. 42: 1363–1371.
- Kuzyakov, Y. and Blagodatskaya, E. (2015) Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept & review. *Soil Biol. Biochem.* **83**: 184–199.
- Lal, R. (2004) Soil carbon sequestration to mitigate climate change. Geoderma 123: 1–22.
- Lehmann, J. and Kleber, M. (2015) The contentious nature of soil organic matter. *Nature* **528**: 60–68.
- Lienhard P, Tivet F, Chabanne A, Dequiedt S, Lelièvre M, Sayphoummie S, *et al.* (2012). No-till and cover crops shift soil microbial abundance and diversity in Laos tropical grasslands. *Agron Sustain Dev* **33**: 375–384.
- Lienhard, P., Terrat, S., Prévost-Bouré, N.C., Nowak, V., Régnier, T., Sayphoummie, S., et al. (2013) Pyrosequencing evidences the impact of cropping on soil bacterial and fungal diversity in Laos tropical grassland. *Agron. Sustain. Dev.* **34**: 525–533.
- Löhnis, F. (1926). Nitrogen availability of green manures. Soil Science 22: 253–290.
- Louis BP, Maron P-A, Menasseri-Aubry S *et al.* (2016) Microbial Diversity Indexes Can Explain Soil Carbon Dynamics as a Function of Carbon Source. *PLOS ONE*. **11**: e0161251.
- Lueders T, Kindler R, Miltner A *et al.* (2006) Identification of Bacterial Micropredators Distinctively Active in a Soil Microbial Food Web. *Appl Environ Microbiol.* **72**: 5342–8.
- Luo Y, Wan S, Hui D, Wallace LL. (2001). Acclimatization of soil respiration to warming in a tall grass prairie. *Nature* **413**: 622–625.
- Lützow, M. v., Kögel-Knabner, I., Ekschmitt, K., Matzner, E., Guggenberger, G., Marschner, B., and Flessa, H. (2006) Stabilization of organic matter in temperate soils: mechanisms and their relevance under different soil conditions – a review. *Eur. J. Soil Sci.* 57: 426– 445.
- Madigan, M.T. and Martinko, J.M. (2006) Biologie des micro-organismes 11th ed. Pearson Education France.
- Mangalassery S, Mooney SJ, Sparkes DL *et al.* (2015) Impacts of zero tillage on soil enzyme activities, microbial characteristics and organic matter functional chemistry in temperate soils. *Eur J Soil Biol*. **68**: 9–17.

- Manzoni, S., Taylor, P., Richter, A., Porporato, A., and Ågren, G.I. (2012) Environmental and stoichiometric controls on microbial carbon-use efficiency in soils. *New Phytol.* **196**: 79–91.
- Manzoni, S., Trofymow, J.A., Jackson, R.B., and Porporato, A. (2010) Stoichiometric controls on carbon, nitrogen, and phosphorus dynamics in decomposing litter. *Ecol. Monogr.* 80: 89–106.
- Maron, P.-A., Mougel, C., and Ranjard, L. (2011) Soil microbial diversity: Methodological strategy, spatial overview and functional interest. *C. R. Biol.* **334**: 403–411.
- Marstorp H, Guan X, Gong P. (2000). Relationship between dsDNA, chloroform labile C and ergosterol in soils of different organic matter contents and pH. *Soil Biol Biochem* **32**: 879–882.
- Mazoyer, M. (2008) La situation agricole et alimentaire mondiale : causes, conséquences, perspectives. *Ol. Corps Gras Lipides* **15**: 385–390.
- McGuire KL, Fierer N, Bateman C, Treseder KK, Turner BL. (2012). Fungal community composition in neotropical rain forests: the influence of tree diversity and precipitation. *Microb Ecol* **63**: 804–812.
- Millennium Ecosystem Assessment (2005) Ecosystems and Human Well-being: Synthesis. Island Press, Washington, DC.
- Milcu, A., Heim, A., Ellis, R.J., Scheu, S., Manning, P. (2011) Identification of General Patterns of Nutrient and Labile Carbon Control on Soil Carbon Dynamics Across a Successional Gradient. *Ecosystems*. 14: 710–719.
- Minasny, B., Malone, B.P., McBratney, A.B., Angers, D.A., Arrouays, D., Chambers, A., et al. (2017) Soil carbon 4 per mille. *Geoderma* **292**: 59–86.
- Ministère de l'agriculture, de l'élevage et de la pêche (2009) Deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture – Madagascar. MAEP, Antananarivo
- Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique (2015) Plan directeur de la recherche sur l'agriculture et la sécurité alimentaire 2015-2019. MESupReS, Antananarivo.
- Moorhead, D.L. and Sinsabaugh, R.L. (2006) A THEORETICAL MODEL OF LITTER DECAY AND MICROBIAL INTERACTION. *Ecol. Monogr.* **76**: 151–174.

- Mulvaney M.L. (1986) Nitrogen Inorganic forms. In: Methods of Soil Analysis Part 3. Chemical Methods". A. Klute Ed., pp. 1130. American Society of Agronomy, Madison, WI.
- Murphy CJ, Baggs EM, Morley N, Wall DP, Paterson E. (2015). Rhizosphere priming can promote mobilisation of N-rich compounds from soil organic matter. *Soil Biol Biochem* **81**: 236–243.
- Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M.T., Landi, L., Pietramellara, G., and Renella, G. (2003) Microbial diversity and soil functions. *Eur. J. Soil Sci.* **54**: 655–670.
- Neelin JD, Münnich M, Su H, Meyerson JE, Holloway CE. (2006). Tropical drying trends in global warming models and observations. *PNAS* **103**: 6110–6115.
- Neill C, Gignoux J. (2006) Soil organic matter decomposition driven by microbial growth: A simple model for a complex network of interactions. *Soil Biol Biochem.* **38**: 803–11.
- Nemergut, D.R., Knelman, J.E., Ferrenberg, S., Bilinski, T., Melbourne, B., Jiang, L., et al. (2016) Decreases in average bacterial community rRNA operon copy number during succession. *ISME J.* **10**: 1147–1156.
- Niang, I., Ruppel, O.C., Abdrabo, M.A., Essel, A., Lennard, C., Padgham, J., and Urquhart, P. (2014) Africa. In: Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part B: Regional Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 1199-1265.
- Nivelle E, Verzeaux J, Habbib H *et al.* (2016) Functional response of soil microbial communities to tillage, cover crops and nitrogen fertilization. *Appl Soil Ecol.* **108**: 147–55.
- Nottingham, A.T., Griffiths, H., Chamberlain, P.M., Stott, A.W., and Tanner, E.V.J. (2009) Soil priming by sugar and leaf-litter substrates: A link to microbial groups. *Appl. Soil Ecol.*42: 183–190.
- Nottingham, A.T., Turner, B.L., Chamberlain, P.M., Stott, A.W., and Tanner, E.V.J. (2012) Priming and microbial nutrient limitation in lowland tropical forest soils of contrasting fertility. *Biogeochemistry* **111**: 219–237.
- Nottingham, A.T., Turner, B.L., Stott, A.W., and Tanner, E.V.J. (2015) Nitrogen and phosphorus constrain labile and stable carbon turnover in lowland tropical forest soils. *Soil Biol. Biochem.* **80**: 26–33.

- Nottingham AT, Whitaker J, Turner BL, Salinas N, Zimmermann M, Malhi Y, *et al.* (2015). Climate Warming and Soil Carbon in Tropical Forests: Insights from an Elevation Gradient in the Peruvian Andes. *Bioscience* **65**: 906–921.
- O'Brien, H.E., Parrent, J.L., Jackson, J.A., Moncalvo, J.-M., and Vilgalys, R. (2005) Fungal Community Analysis by Large-Scale Sequencing of Environmental Samples. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**: 5544–5550.
- Panikov, N.S. (2010) Microbial Ecology. In, Wang,L.K., Ivanov,V., and Tay,J.-H. (eds), *Environmental Biotechnology*, Handbook of Environmental Engineering. Humana Press, pp. 121–191.
- Pansu M, Gautheyrou J. (2007). Handbook of Soil Analysis: Mineralogical, Organic and Inorganic Methods. Springer Science & Business Media.
- Parham J, Deng S, Raun W *et al.* (2002) Long-term cattle manure application in soil. *Biol Fertil Soils*. **35**: 328–37.
- Parham JA, Deng SP, Da HN *et al.* (2003) Long-term cattle manure application in soil. II. Effect on soil microbial populations and community structure. *Biol Fertil Soils*. **38**: 209–15.
- Pascault, N., Nicolardot, B., Bastian, F., Thiébeau, P., Ranjard, L., and Maron, P.-A. (2010) In Situ Dynamics and Spatial Heterogeneity of Soil Bacterial Communities Under Different Crop Residue Management. *Microb. Ecol.* **60**: 291–303.
- Pascault, N., Ranjard, L., Kaisermann, A., Bachar, D., Christen, R., Terrat, S., et al. (2013) Stimulation of Different Functional Groups of Bacteria by Various Plant Residues as a Driver of Soil Priming Effect. *Ecosystems* 16: 810–822.
- Paterson, E. and Sim, A. (2013) Soil-specific response functions of organic matter mineralization to the availability of labile carbon. *Glob. Change Biol.* **19**: 1562–1571.
- Paustian, L., Babcock, B., Hatfield, J.L., Lal, R., McCarl, B.A., McLaughlin, S., et al. (2016) Agricultural mitigation of greenhouse gases: Science and policy options.
- Pavinato PS, Dao TH. Rosolem CA. (2010). Tillage and phosphorus management effects on enzyme-labile bioactive phosphorus availability in Cerrado Oxisols. *Geoderma* **156**: 207–215.
- Peay, K.G., Kennedy, P.G., and Bruns, T.D. (2008) Fungal Community Ecology: A Hybrid Beast with a Molecular Master. *BioScience* **58**: 799–810.
- Pérez-Piqueres A, Edel-Hermann V, Alabouvette C *et al.* (2006) Response of soil microbial communities to compost amendments. *Soil Biol Biochem.* **38**: 460–70.

- Pham, V.H.T. and Kim, J. (2012) Cultivation of unculturable soil bacteria. *Trends Biotechnol.* **30**: 475–484.
- Plassart P, Terrat S, Thomson B, Griffiths R, Dequiedt S, Lelievre M, et al. (2012). Evaluation of the ISO Standard 11063 DNA Extraction Procedure for Assessing Soil Microbial Abundance and Community Structure. PLOS ONE 7: e44279.
- Poeplau, C. and Don, A. (2015) Carbon sequestration in agricultural soils via cultivation of cover crops A meta-analysis. *Agric. Ecosyst. Environ.* **200**: 33–41.
- Pretty, J., Toulmin, C., and Williams, S. (2011) Sustainable intensification in African agriculture. Int. J. Agric. Sustain. **9**: 5–24.
- Quaiser, A., Ochsenreiter, T., Lanz, C., Schuster, S.C., Treusch, A.H., Eck, J., and Schleper, C.
   (2003) Acidobacteria form a coherent but highly diverse group within the bacterial domain: evidence from environmental genomics. *Mol. Microbiol.* 50: 563–575.
- Rabeharisoa, L. (2004) Gestion de la fertilité et de la fertilisation phosphatée des sols ferrallitiques des Hautes Terres de Madagascar. *These Dr. D'Etat Univ. D'Antananarivo Madag.* 202.
- Ramarosona VH, Becquer T, Sá SO, Razafimahatratra H, Larvy Delarivière J, Blavet D, Vendrame PRS, *et al.* (2017). Mineralogical analysis of ferralitic soils in Madagascar using NIR spectroscopy. *Catena* (accepted for publication).
- Ranjard, L. and Richaume, A. (2001) Quantitative and qualitative microscale distribution of bacteria in soil. *Res. Microbiol.* **152**: 707–716.
- Raunet, M. (1997) Les Ensembles Morpho-pédologiques de Madagascar, Projet Conservation des sols, Cirad, Madagascar. 76p.
- Razavi BS, Blagodatskaya E, Kuzyakov Y. (2016). Temperature selects for static soil enzyme systems to maintain high catalytic efficiency. *Soil Biol Biochem* **97**: 15–22.
- Razafimbelo, T., Barthès, B., Larré-Larrouy, M.-C., Luca, E.F.D., Laurent, J.-Y., Cerri, C.C., Feller,
  C. (2006) Effect of sugarcane residue management (mulching versus burning) on organic matter in a clayey Oxisol from southern Brazil. *Agric. Ecosyst. Environ.* 115: 285–289.
- Razanamalala, K., Razafimbelo, T., Maron, P.-A., Ranjard, L., Chemidlin, N., Lelièvre, M., Dequiedt, S., Ramaroson, V.H., Marsden, C., Becquer, T., Trap, J., Blanchart, E., Bernard, L. (2017) Soil microbial diversity drives the priming effect along climate gradients A case study in Madagascar. *The ISME j.* In press. DOI: 10.1038/ismej.2017.178

- Recorbet G, Picard C, Normand P et al. (1993) Kinetics of the persistence of chromosomal DNA from genetically engineered Escherichia coli introduced into soil. *Appl Environ Microbiol.* **59**: 4289–94.
- Rønn, R., Vestergård, M., and Ekelund, F. (2012) Interactions Between Bacteria, Protozoa and Nematodes in Soil. *Acta Protozool.* **51**: 223–235.
- Rousk, J., Bååth, E., Brookes, P.C., Lauber, C.L., Lozupone, C., Caporaso, J.G., et al. (2010) Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *ISME J.* **4**: 1340–1351.
- Rumpel, C. (2008) Does burning of harvesting residues increase soil carbon storage? J. Soil Sci. Plant Nutr. 8: 44-51.
- Rustad L, Campbell J, Marion G, Norby R, Mitchell M, Hartley A, *et al.* (2001). A meta-analysis of the response of soil respiration, net nitrogen mineralization, and aboveground plant growth to experimental ecosystem warming. *Oecologia* **126**: 543–562.
- Saggar S, Parshotam A, Sparling GP, Feltham CW, Hart PBS. (1996). 14C-labelled ryegrass turnover and residence times in soils varying in clay content and mineralogy. *Soil Biol Biochem* **28**: 1677–1686.
- Salgado, P., Beauvais, C., Rakotorinina, N., Marquant, B., Lovaniaina, J., Rarivoarimanana, B.,
   Nabeneza, S., Tillard, E., Decruyenaere, V. and Lecomte, Ph. (2011). Valorisation du
   fumier. In *Fiche Technique*, 2 (Eds CIRAD). Antananarivo, Madagascar: CIRAD.
- Schaefer CEGR, Fabris JD, Ker JC. (2008). Minerals in the clay fraction of Brazilian Latosols (Oxisols): a review. *Clay Miner* **43**: 137–154.
- Schaeffer, A., Nannipieri, P., Kästner, M., Schmidt, B., and Botterweck, J. (2015) From humic substances to soil organic matter–microbial contributions. In honour of Konrad Haider and James P. Martin for their outstanding research contribution to soil science. J. Soils Sediments 15: 1865–1881.
- Schmidt MWI, Torn MS, Abiven S *et al.* (2011) Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*. **478**: 49–56.
- Schoch CL, Sung G-H, López-Giráldez F *et al.* (2009) The Ascomycota Tree of Life: A Phylumwide Phylogeny Clarifies the Origin and Evolution of Fundamental Reproductive and Ecological Traits. *Syst Biol.* syp020.
- Ségalen, P. (1994) Les sols ferrallitiques et leur répartition géographique. Tome 1. Introduction générale, les sols ferrallitiques : leur identification et leur environnement immédiat.Tome 2. Les sols ferrallitiques : les facteurs de formation et les sols ferrallitiques en

Amérique. Tome 3. Les sols ferrallitiques en Afrique et en Extrême-Orient, Australie et Océanie : conclusions générales ORSTOM, Paris.

- Sicili L., 2014. Agroecology: What it is and what it has to offer.IIED Issue Paper. IIED, London.
- Simon, L., Lalonde, M., and Bruns, T.D. (1992) Specific amplification of 18S fungal ribosomal genes from vesicular-arbuscular endomycorrhizal fungi colonizing roots. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 291–295.
- Six, J., Elliott, E.T., and Paustian, K. (2000) Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: a mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture. *Soil Biol. Biochem.* **32**: 2099–2103.
- Six, J., Bossuyt, H., Degryze, S., and Denef, K. (2004) A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil Tillage Res.* 79: 7–31.
- Six, J., Frey, S.D., Thiet, R.K., and Batten, K.M. (2006) Bacterial and Fungal Contributions to Carbon Sequestration in Agroecosystems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **70**: 555.
- Smith, P., House, J.I., Bustamante, M., Sobocká, J., Harper, R., Pan, G., et al. (2016) Global change pressures on soils from land use and management. *Glob. Change Biol.* 22: 1008–1028.
- Soil Survey Staff, 1999. Soil taxonomy. A basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys. In: Agricultural Handbook 436. 2nd edn. USDA-NRCS, Washington DC, 869 pp.
- Song, G., Chen, R., Xiang, W., Yang, F., Zheng, S., Zhang, J., et al. (2015) Contrasting effects of long-term fertilization on the community of saprotrophic fungi and arbuscular mycorrhizal fungi in a sandy loam soil. *Plant Soil Environ.* **61**: 127–136.
- Spain, A.M., Krumholz, L.R., and Elshahed, M.S. (2009) Abundance, composition, diversity and novelty of soil Proteobacteria. *ISME J.* **3**: 992–1000.
- Spohn, M., Ermak, A., Kuzyakov, Y., 2013. Microbial gross organic phosphorus mineralization can be stimulated by root exudates A 33P isotopic dilution study. *Soil Biol. Biochem.*65: 254–263.
- Stackebrandt, E., Liesack, W., and Goebel, B.M. (1993) Bacterial diversity in a soil sample from a subtropical Australian environment as determined by 16S rDNA analysis. *FASEB J.* 7: 232–236.

- Stackebrandt, E., Murray, R.G.E., and Trüper, H.G. (1988) Proteobacteria classis nov., a Name for the Phylogenetic Taxon That Includes the "Purple Bacteria and Their Relatives." Int.
   J. Syst. Evol. Microbiol. 38: 321–325.
- STACKEBRANDT, E., RAINEY, F.A., and WARD-RAINEY, N.L. (1997) Proposal for a New Hierarchic Classification System, Actinobacteria classis nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*47: 479–491.
- Stoddard, S.F., Smith, B.J., Hein, R., Roller, B.R.K., and Schmidt, T.M. (2015) rrnDB: improved tools for interpreting rRNA gene abundance in bacteria and archaea and a new foundation for future development. *Nucleic Acids Res.* **43**: D593–D598.
- Sullivan, B.W. and Hart, S.C. (2013) Evaluation of mechanisms controlling the priming of soil carbon along a substrate age gradient. *Soil Biol. Biochem.* **58**: 293–301.
- Talbot JM, Allison SD, Treseder KK. (2008) Decomposers in disguise: mycorrhizal fungi as regulators of soil C dynamics in ecosystems under global change. *Funct Ecol.* **22**: 955–63.
- Tardy, V., Spor, A., Mathieu, O., Lévèque, J., Terrat, S., Plassart, P., et al. (2015) Shifts in microbial diversity through land use intensity as drivers of carbon mineralization in soil. *Soil Biol. Biochem.* **90**: 204–213.
- Taylor, P. G., Cleveland, C. C., Wieder, W. R., Sullivan, B. W., Doughty, C. E., Dobrowski, S. Z.,
  & Townsend, A. R. (2017). Temperature and rainfall interact to control carbon cycling in tropical forests. *Ecology Letters*, *20*(6), 779-788.
- Terrat S, Christen R, Dequiedt S, Lelièvre M, Nowak V, Regnier T, *et al.* (2012). Molecular biomass and MetaTaxogenomic assessment of soil microbial communities as influenced by soil DNA extraction procedure. *Microb Biotechnol* **5**: 135–141.
- Thiessen, S., Gleixner, G., Wutzler, T., and Reichstein, M. (2013) Both priming and temperature sensitivity of soil organic matter decomposition depend on microbial biomass An incubation study. *Soil Biol. Biochem.* **57**: 739–748.
- Thomson, B.C., Ostle, Ni.J., McNamara, N.P., Oakley, S., Whiteley, A.S., Bailey, M.J., Griffiths,
   R.I. (2013) Plant soil interactions alter carbon cycling in an upland grassland soil. *Front. Microbiol.* 4: 253.
- Thorn, R.G. and Lynch, M.D.J. (2007) 6 FUNGI AND EUKARYOTIC ALGAE. In, Paul,E.A. (ed), *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry (Third Edition)*. Academic Press, San Diego, pp. 145–162.

- Thuries, L., Bastianelli, D., Davrieux, F., Bonnal, L., Oliver, R., Pansu, M., Feller, C. (2005) Prediction by near infrared spectroscopy of the composition of plant raw materials from the organic fertiliser industry and of crop residues from tropical agrosystems. J. Near Infrared Spectrosc. 13: 187–199.
- Tisdall, J.M. and Oades, J.M. (1982) Organic matter and water-stable aggregates in soils. *J. Soil Sci.* **33**: 141–163.
- Torsvik, V. and Øvreås, L. (2002) Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Curr. Opin. Microbiol.* **5**: 240–245.
- Tournier, E., Amenc, L., Pablo, A.L., Legname, E., Blanchart, E., Plassard, C., Robin, A., Bernard,
   L. (2015) Modification of a commercial DNA extraction kit for safe and rapid recovery
   of DNA and RNA simultaneously from soil, without the use of harmful solvents.
   MethodsX. 2: 182–191.
- Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS. (1987) An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol Biochem*. **19**: 703–7.
- Vukicevich, E., Lowery, T., Bowen, P., Úrbez-Torres, J.R., and Hart, M. (2016) Cover crops to increase soil microbial diversity and mitigate decline in perennial agriculture. A review. *Agron. Sustain. Dev.* **36**: 48.
- Waldrop, M.P., Balser, T.C., and Firestone, M.K. (2000) Linking microbial community composition to function in a tropical soil. *Soil Biol. Biochem.* **32**: 1837–1846.
- Walkley A, Black IA. (1934) An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil science*. **37**: 29-38.
- Wan, S., Norby, R.J., Ledford, J., and Weltzin, J.F. (2007) Responses of soil respiration to elevated CO2, air warming, and changing soil water availability in a model old-field grassland. *Glob. Change Biol.* 13: 2411–2424.
- Ward, D., Weller, R., and Bateson, M. (1990) 16s Ribosomal-Rna Sequences Reveal Numerous Uncultured Microorganisms in a Natural Community. *Nature* **345**: 63–65.
- Wardle DA (2005). How plant communities influence decomposer communities. In R. Bardgett, M. Usher, & D. Hopkins (Eds.), *Biological Diversity and Function in Soils* (Ecological Reviews, pp. 119-138). Cambridge: Cambridge University Press. doi:10.1017/CBO9780511541926.008

- Watt, M., Hugenholtz, P., White, R., and Vinall, K. (2006) Numbers and locations of native bacteria on field-grown wheat roots quantified by fluorescence in situ hybridization (FISH). *Environ. Microbiol.* **8**: 871–884.
- Widmer F, Rasche F, Hartmann M, Fliessbach A. (2006). Community structures and substrate utilization of bacteria in soils from organic and conventional farming systems of the DOK long-term field experiment. *Appl Soil Ecol* **33**: 294–307.
- Will C, Thürmer A, Wollherr A, Nacke H, Herold N, Schrumpf M, et al. (2010). Horizon-Specific Bacterial Community Composition of German Grassland Soils, as Revealed by Pyrosequencing-Based Analysis of 16S rRNA Genes. Appl Environ Microbiol 76: 6751– 6759.
- Wilson, M.H. and Lovell, S.T. (2016) Agroforestry—The Next Step in Sustainable and Resilient Agriculture. *Sustainability* **8**: 574.
- World Bank (2015) Madagascar Diagnostic systématique de pays. Washington, D.C. : World Bank Group.

http://documents.worldbank.org/curated/en/130511468185962850/Madagascar-Diagnostic-systématique-de-pays

- Yabe, S., Aiba, Y., Sakai, Y., Hazaka, M., and Yokota, A. (2010) Thermosporothrix hazakensis gen. nov., sp. nov., isolated from compost, description of Thermosporotrichaceae fam. nov. within the class Ktedonobacteria Cavaletti et al. 2007 and emended description of the class Ktedonobacteria. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60: 1794–1801.
- Young, I.M., Crawford, J.W., Nunan, N., Otten, W., and Spiers, A. (2008) Chapter 4 Microbial Distribution in Soils: Physics and Scaling. In, Agronomy, B.-A. in (ed). Academic Press, pp. 81–121.
- Zang, H., Wang, J., and Kuzyakov, Y. (2016) N fertilization decreases soil organic matter decomposition in the rhizosphere. *Appl. Soil Ecol.* **108**: 47–53.

Annexes

Annexes

# Annexe 1 : Chapitre II en photographies

- (A) Echantillonnage de sol sur la RN34.
- (B) Savane sur la RN4
- (C) Incubation des échantillons de sol pour le suivi de l'émission de CO2
- (D) Mesure de l'émission de CO<sub>2</sub> au microCPG
- (E) Extraction de phosphate à l'aide de résines échangeuses d'anions
- (F) Dosage spectrophotométrique du phosphore au bleu de molybdène













Annexe 2 : Dataset 1 du chapitre II

Sample	longitude	latitude	altitude	MAP	MAT	BD	clay	silt	sand	Kaolinite	Gibbsite	soil humidity	pH	CEC	ox Al	ox Fe	tot C	tot N	tot P	soil C:N
	DD	DD	m	mm.year <sup>-1</sup>	°C.year <sup>-1</sup>	g.cm <sup>-3</sup>	%	%	%	mg.kg <sup>-1</sup>	mg.kg <sup>-1</sup>	%		cmol+ .kg <sup>-1</sup>	mg.g <sup>-1</sup> soil					
RN34_1	46.187997	-19.58712	915	1504	21.9	1.52	29.04	4.42	66.54	408.54	37.86	5.53	4.72	3.92	1.57	0.91	15.1	1.00	0.2734	15.03
RN34_2	46.082402	-19.59882	1031	1492	21.9	1.3	39.46	4.91	55.63	329.92	32.75	11.59	5.83	4.22	2.39	2.35	28.05	1.94	0.4491	14.44
RN34_3	45.978408	-19.63912	813	1465	22.7	1.22	47.18	7.05	45.77	372.6	34.33	9.42	6.18	3.04	1.93	1.71	11.47	0.93	0.23	12.32
RN34_6	45.787117	-19.648419	680	1430	23.4	1.23	52.93	7.48	39.59	279.81	38.32	12.99	5.53	1.48	1.4	1.96	18.07	1.16	0.2539	15.57
RN34_7	45.533531	-19.596122	373	1359	25.5	1.5	44.93	3.21	51.86	496.59	24.09	9.48	6.04	6.45	0.82	0.43	8.25	0.71	0.179	11.67
RN34_8	46.337189	-19.577919	945	1508	21.8	1.42	42.21	8.48	49.31	388.12	48.92	9.84	5.45	1.17	1.56	0.62	15.55	1.17	0.3251	13.28
RN34_9	46.483831	-19.62205	1038	1512	20.9	1.42	61.62	0.98	37.39	394.53	52.17	9.44	5.39	3.4	1.94	1.98	16.14	1.26	0.5197	12.76
RN34_10	46.617275	-19.721217	1128	1504	20.1	1.19	41.7	12.13	46.16	353.9	143.44	12.61	5.55	2.85	2.18	1.31	18.8	1.26	0.39	14.92
RN34_13	46.763767	-19.807017	1298	1479	18.6	1.13	55.48	5.64	38.88	225.11	98.85	19.9	5.29	2.15	3.96	1.78	24.68	1.7	0.619	14.48
RN4_36	46.911856	-16.970067	64	1668	26.8	1.52	16.00	11.84	72.15	408.85	26.33	5.01	6.31	8.29	1.02	1.29	3.74	0.32	0.2991	11.85
RN4_37	46.806661	-17.116664	214	1694	26.7	1.32	38.36	15.62	46.02	260.2	28.52	5.14	6.44	3.45	0.61	2.24	7.66	0.48	0.24	16.06
RN4_40	46.930556	-17.359758	394	1759	25.7	1.34	56.92	2.67	40.41	422.31	35.13	8.29	5.86	3.44	0.91	1.59	13.52	0.89	0.3577	15.24
RN4_41	46.987253	-17.486558	639	1776	24.0	1.35	47.37	3.13	49.5	392.47	31.58	7.33	5.61	2.52	1.64	2.12	17.41	1.29	0.319	13.52
RN4_42	46.954956	-17.622056	655	1817	24.0	1.15	46.05	3.64	50.31	423.63	32.76	8.7	5.75	3.07	2.46	1.29	23.87	1.72	0.41	13.87
RN4_46	47.104347	-17.90865	1477	1500	18.5	1.18	39.99	6.35	53.66	343.57	304.85	10.15	5.5	1.05	5.12	6.94	23.92	1.07	0.724	22.42
RN4_47	47.152844	-18.033647	1558	1468	18.1	1.13	47.55	3.32	49.13	406.99	119.64	10.79	5.37	1.75	6.71	1.51	36.58	2.08	0.34	17.58
RN4_50	47.215542	-18.131644	1556	1435	17.7	1.19	54.33	2.62	43.05	306.6	216.93	14.91	5.58	2.13	2.04	2.01	39.39	2.27	0.4752	17.36
RN4_51	47.142747	-18.265542	1295	1466	19.1	1.36	38.41	3.07	58.52	211.53	302.71	7.38	5.36	3.09	3.23	0.53	22.59	1.08	0.36	20.88
RN4_54	47.137547	-18.395742	1308	1450	19.1	1.31	43.09	4.04	52.87	325.43	212.74	7.92	5.22	2.19	1.43	1.05	25.63	1.43	0.3743	17.94
RN4_55	47.199544	-18.541639	1421	1402	18.3	1.22	42.22	5.23	52.55	193.22	285.91	9.5	5.17	3.59	1.43	3.19	36.82	1.86	0.647	19.79
RN4_56	47.293339	-18.668636	1308	1363	18.9	1.32	40.67	8.32	51.02	281.91	306.76	6.5	5.16	0.8	1.73	1.4	18.13	1.09	0.4561	16.67
RN4_57	47.393133	-18.778133	1295	1327	18.8	1.21	41.78	2.42	55.8	263.35	332.66	9.13	5.62	1.24	1.68	1.26	28.08	1.6	0.4794	17.56
RN7_75	45.477339	-22.537167	802	783	22.0	1.53	18.64	23.69	57.66	184.59	28.55	3.53	5.62	3.2	0.88	0.91	14.7	0.85	0.29	17.24
RN7_76	45.670431	-22.498169	955	790	21.2	1.46	21.84	5.93	72.23	407.84	26.91	4.74	5.27	0.99	1.18	0.42	15.85	0.85	0.2604	18.58
RN7 77	45.854019	-22.429669	1031	798	20.7	1.5	26.25	7.31	66.43	288.87	32.74	4.79	4.75	2.26	0.62	0.72	13.4	0.74	0.23	17.88
RN7 80	46.027111	-22.400969	1123	819	20.2	1.2	27.78	4.38	67.84	387.82	71.77	4.36	4.86	3.04	0.58	0.5	19.95	1.16	0.5897	17.22
RN7_81	46.291797	-22.298769	747	779	21.7	1.37	33.71	3.65	62.64	288.35	31.09	5.29	4.98	4.99	0.89	0.36	25.39	1.22	0.3281	20.75
RN7_82	46.585981	-21.961678	774	926	21.1	1.49	32.34	6.7	60.96	295.59	32.42	4.84	5.75	3.98	1.57	0.63	18.00	1.08	0.5847	16.75
RN7_83	46.738272	-21.931878	1014	990	19.6	1.22	46.97	10.45	42.58	411.58	26.28	11.07	5.94	2.76	1.96	1.34	16.41	1.2	0.44	13.86
RN7_86	46.851567	-21.814078	984	1049	19.9	1.43	39.13	8.7	52.16	287.86	30.84	11.99	5.46	2.71	1.51	0.84	16.27	1.03	0.3281	15.85
RN7 87	46.952961	-21.774081	1098	1106	18.9	1.44	42.67	12.37	44.96	501.19	28.61	9.99	5.86	3.74	1.05	1.21	14.48	1.08	0.3092	13.47
RN7 88	47.019431	-21.583611	1174	1171	18.6	1.26	56.4	3.48	40.12	496.73	131.99	10.99	4.93	2.52	1.56	1.43	24.58	1.36	0.345	18.03
RN7 89	47.123839	-21.44545	1135	1271	18.6	1.26	58.31	3.71	37.98	441.25	162.67	17.13	4.77	2.33	1.52	2.03	22.92	1.41	1.3371	16.29
RN7 90	47.17455	-21.358586	1140	1327	18.6	1.13	46.66	4.65	48.69	336.44	155.44	13.1	5.53	2.43	3.88	1.73	26.73	1.51	0.4	17.67
RN7_93	47.244544	-21.150792	1238	1368	17.9	1.1	60.95	3.68	35.37	379.65	224.72	17.06	4.95	2.1	2.15	2.28	41.61	2.26	1.5117	18.38
RN7_94	47.18235	-21.037592	1246	1333	17.8	1.29	45.67	4.03	50.3	452.65	166.48	14.07	5.89	2.13	1.97	0.78	22.82	1.31	0.2639	17.48
RN7 95	47.13705	-20.893894	1443	1345	16.9	1.12	65.17	5.19	29.64	359.48	94.18	19.17	5.98	6.27	1.28	2.02	43.82	2.65	0.4822	16.55
RN7 96	47.209847	-20.6003	1534	1418	16.4	1.3	46.01	3.68	50.31	367.31	255.95	9.45	5.73	2.41	2.12	0.77	35.42	1.84	0.2832	19.28
RN7 97	47.231631	-20.4612	1343	1491	17.4	1.00	55.94	6.43	37.63	231.02	309.01	23.82	5.69	2.65	1.76	3.9	36.21	2.12	0.85	16.97
RN7 100	47.12595	-20.322406	1399	1441	17.4	1.28	58.73	4.5	36.77	443.59	176.17	16.96	6.29	3.17	2.33	1.08	27.84	1.62	0.3808	17.24
minimum	45.477	-22.537	64	779	16	1.003	16.000	0.983	29.639	184.587	24.088	3.531	4.72	0.8	0.58	0.362	3.739	0.316	0.179	11.669
maximum	47.393	-16.97	1558	1817	27	1.532	65.169	23.694	72.23	501.194	332.663	23.817	6.44	8.29	6.708	6.938	43.823	2.649	1.512	22.422
median	46.953	-19.648	1098	1430	20	1.294	44.934	4.646	49.5	363.399	61.969	9.477	5.55	2.75	1.644	1.337	22.587	1.26	0.36	16.711
Coefficient of																				
variation	1%	-9%	35%	21%	13%	10%	27%	68%	21%	24%	88%	45%	8%	50%	62%	73%	42%	37%	60%	15%

raw data and main statistic

Sample	Nmin	avP	MBP	MMB	DNA16S	DNA18S	F:B	OTU_B	Evenness_B	OTU_F	Evenness_F
	mg.kg <sup>-1</sup> soil	mg.kg <sup>-1</sup> soil	mg.kg <sup>-1</sup> soil	ng ADN.g <sup>-1</sup> soil	copies.g <sup>-1</sup> soil	copies.g <sup>-1</sup> soil		number of sequences		number of sequences	
RN34_1	17.03	1.21	1.35	7696.00	2.28E+09	1.25E+08	0.06	630	0.8402	538	0.6546
RN34_2	7.51	0.46	2.83	19954.55	5.22E+09	5.51E+08	0.11	582	0.8045	448	0.6479
RN34_3	15.39	0.21	1.54	22480.39	7.21E+09	5.48E+08	0.07	552	0.82	578	0.68
RN34_6	6.18	0.49	4.26	33345.33	8.60E+09	4.16E+08	0.05	521	0.8080	519	0.6849
RN34_7	4.83	0.27	5.55	ND	ND	ND	ND	ND	ND	373	0.5964
RN34_8	5.73	0.42	3.1	11392.00	2.70E+09	3.61E+08	0.13	510	0.8285	620	0.6841
RN34_9	7.65	0.71	2.88	40139.43	1.15E+10	9.56E+08	0.08	648	0.8509	619	0.7195
RN34_10	5.35	0.37	2.36	23053.24	5.64E+09	3.78E+08	0.07	610	0.85	465	0.68
RN34_13	17.66	0.53	2.77	18656.54	7.04E+09	3.37E+08	0.05	587	0.8321	540	0.7008
RN4 36	4.74	0.33	0.47	1912.66	7.15E+08	5.40E+07	0.08	635	0.8338	475	0.6579
RN4 37	5.32	0.41	1.46	7161.24	3.20E+09	2.17E+08	0.08	612	0.84	303	0.54
RN4 40	6.18	0.1	1.17	12955.65	4.24E+09	2.24E+08	0.05	433	0.7935	414	0.6231
RN4 41	6 4 9	0.5	2.9	10046 88	3.08E+09	1 97E+08	0.06	457	0 7936	557	0.7235
RN4 42	6.23	0.45	2 62	12403 77	3 74E+09	2 24F+08	0.06	535	0.81	530	0.69
RN4 46	5 56	0.08	0.91	12405.17	2 73E+09	1.92F+08	0.00	382	0.7858	301	0.6475
RN4 47	5.97	0.00	5.09	32785.6	7.53E+09	3.61E±08	0.05	442	0.78	416	0.66
RI(4_4/	6.02	0.59	5.65	23300.04	6.21E+09	1.00E+08	0.03	467	0.7872	376	0.00
NN4_50	5.45	0.59	4.27	17857 41	0.21E+09	1.90E+08	0.03	407 549	0.7872	514	0.7213
NN4_51	5.45	0.08	4.37	20780.12	3.03E+09	2.90E+00	0.10	540	0.01	250	0.08
RIN4_54	5.55	0.99	0.91	20780.12	5.95E+09	8.42E+08	0.21	525	0.8124	535	0.6432
KN4_55	6.12	0.84	0.02	38498.03	4.00E+09	3.95E+08	0.10	525	0.7980	525	0.6684
KN4_56	6.27	0.53	1.92	10/4/.21	3.34E+09	2.86E+08	0.09	5/4	0.8116	592	0.6705
RN4_57	5.85	1.33	8.76	28801.01	6.79E+09	6.52E+08	0.10	570	0.8079	538	0.6762
RN7_75	6.28	2.8	3.63	16034.13	4.96E+09	3.12E+08	0.06	697	0.8441	308	0.5924
RN7_76	6.78	1.2	2.93	12127.73	3.09E+09	7.64E+07	0.02	533	0.7763	357	0.7270
RN7_77	5.6	1.00	1.68	7480.9	2.08E+09	1.56E+08	0.07	555	0.81	291	0.66
RN7_80	5.23	1.45	7.72	24878.39	3.94E+09	2.83E+08	0.07	511	0.7986	485	0.7289
RN7_81	4.84	3.53	3.02	17037.91	4.98E+09	1.78E+08	0.04	544	0.7945	374	0.7207
RN7_82	17.68	2.72	2.7	14920.33	4.52E+09	2.11E+08	0.05	583	0.8195	342	0.6110
RN7_83	4.99	0.93	3.03	14951.95	4.39E+09	2.41E+08	0.06	591	0.81	446	0.67
RN7_86	7.11	0.88	2.79	12578.21	3.63E+09	2.37E+08	0.07	665	0.8401	ND	ND
RN7_87	6.51	0.54	2.05	9155.48	2.62E+09	2.13E+08	0.08	608	0.8203	485	0.6587
RN7_88	5.82	0.72	4.53	19877.21	7.83E+09	5.14E+08	0.07	562	0.8141	352	0.5828
RN7 89	9.55	0.31	5.25	18086.04	4.57E+09	2.92E+08	0.06	431	0.7735	581	0.6890
RN7 90	8.67	0.49	2.87	25563.38	6.08E+09	2.74E+08	0.05	522	0.83	463	0.68
RN7 93	6.98	1.13	10.19	48531.36	1.27E+10	5.11E+08	0.04	445	0.7702	353	0.6935
RN7 94	7.83	0.68	4 91	15855 31	4 55E+09	2.92E+08	0.06	587	0.8219	502	0.6950
RN7 95	8.97	1.43	20.98	63218 32	1.12E+10	3.71E+08	0.03	515	0.7939	296	0.6821
RN7 96	646	1.45	12.7	23672.64	2 56E+09	2.97E+08	0.03	454	0.7800	392	0.5805
RN7 97	5.87	0.53	8 75	49457.26	1.27E+10	7.53E+08	0.07	520	0.78	522	0.5005
DN7 100	6.08	0.94	12.16	50678.24	2.28E+10	1.10E+00	0.07	611	0.8138	408	0.7330
minimum	4.745	0.94	0.468	1912.658	7.153E+08	5.404E+07	0.03	382	0.0130	291	0.7559
maximum	17.677	3,529	20.985	63218.322	2.283E+10	1.104E+09	0.215	697	0.851	620	0.734
median	6.206	0.675	3.022	17971.726	4.518E+09	2.924E+08	0.065	548	0.812	463	0.680
oefficient of	0.200	0.072	0.022	1///1//20		202411100	0.000	2-10	0.012	-00	01000
variation	46%	83%	85%	64%	71%	64%	47%	13%	3%	22%	7%

Sample	Proteobacteria	Planctomycetes	Acidobacteria	Unknown_B	Actinobacteria	Chloroflexi	Alphaproteobacteria	Acidobacteria_Gp1	Gammaproteobacteria	Deltaproteobacteria
	number of sequences									
RN34_1	498	499	303	568	486	398	329	268	63	50
RN34_2	632	457	523	435	364	391	361	340	35	162
RN34_3	443	439	406	793	337	390	241	262	25	120
RN34_6	565	469	609	522	324	334	243	447	38	195
RN34_7	ND									
RN34_8	510	506	433	427	255	363	295	181	61	104
RN34_9	453	613	379	651	255	355	253	227	42	96
RN34_10	539	533	427	589	344	342	285	269	48	117
RN34_13	628	483	430	612	355	268	312	353	98	108
RN4_36	423	247	204	686	748	408	214	118	27	70
RN4_37	341	276	309	721	685	452	169	185	24	76
RN4_40	233	400	247	771	311	927	150	118	12	58
RN4_41	360	370	300	773	378	717	226	168	14	100
RN4_42	302	423	254	753	429	690	190	98	15	69
RN4_46	609	459	613	494	243	493	247	352	236	92
RN4_47	705	412	733	335	380	261	336	533	232	76
RN4_50	900	448	642	321	352	121	429	545	258	123
RN4_51	637	564	383	444	437	286	374	235	114	90
RN4_54	624	767	408	329	496	251	386	186	84	79
RN4_55	765	625	549	287	370	275	404	355	166	106
RN4_56	596	523	402	462	497	257	385	180	86	68
RN4_57	828	584	433	297	470	167	495	244	113	109
RN7_75	521	549	349	478	729	163	269	208	33	116
RN7_76	609	337	248	435	987	142	388	185	79	78
RN7_77	439	384	278	593	612	498	254	204	59	63
RN7_80	873	372	370	347	646	200	486	327	121	108
RN7_81	761	163	219	562	792	147	260	160	79	174
RN7_82	395	288	396	578	591	489	178	331	31	107
RN7_83	661	386	337	521	641	215	315	219	78	127
RN7_86	669	457	351	570	475	159	294	301	73	97
RN7_87	399	591	312	600	530	379	234	139	35	41
RN7_88	576	568	496	429	349	404	317	301	144	39
RN7_89	925	428	755	237	371	84	480	635	260	108
RN7_90	570	529	489	561	308	387	268	367	171	85
RN7_93	941	319	910	229	224	112	396	619	277	136
RN7_94	655	439	473	630	444	147	349	401	126	81
RN7_95	1039	515	563	282	347	57	515	443	144	211
RN7_96	917	420	666	268	349	236	474	585	256	87
RN7_97	804	573	757	283	259	67	423	374	141	111
RN7_100	771	475	667	443	244	149	380	519	168	139
minimum	233	163	204	229	224	57	150	98	12	39
maximum	1039	767	910	793	987	927	515	635	277	211
median	609	457	408	494	378	275	315	269	79	100
Coefficient of	31%	25%	38%	33%	30%	60%	30%	47%	76%	37%
variation	51/0	20 /0	5670	5570	27 70	0070	50 /0	47.70	/0/0	5770
Sample	Acidobacteria_Gp2	Betaproteobacteria	Burkholderiaceae	Comamonadaceae	Oxalobacteraceae	Crenarchaeota	Bacteroidetes	Acidobacteria_Gp4	Firmicutes	Verrucomicrobia
----------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------
	number of sequences									
RN34_1	13	30	6	2	5	68	19	2	93	3
RN34_2	108	58	5	3	8	13	55	42	25	11
RN34_3	41	42	3	7	14	64	28	70	29	3
RN34_6	75	71	4	7	15	18	37	49	21	13
RN34_7	ND									
RN34_8	183	34	7	0	2	110	11	31	31	3
RN34_9	64	43	2	4	13	126	29	50	37	6
RN34_10	77	68	9	6	10	61	37	43	38	8
RN34_13	48	88	43	11	12	36	40	13	52	4
RN4_36	3	98	2	5	37	5	95	64	29	41
RN4_37	4	62	1	3	25	14	61	98	12	43
RN4_40	81	8	0	2	1	25	5	39	8	2
RN4_41	45	16	1	1	6	21	12	69	17	0
RN4_42	68	20	1	2	3	28	17	68	30	3
RN4_46	226	17	3	1	2	19	16	16	7	5
RN4_47	181	44	25	2	4	88	10	4	25	19
RN4_50	78	68	18	6	13	90	23	5	25	39
RN4_51	102	38	8	1	11	14	39	18	44	10
RN4_54	163	43	21	6	3	14	12	24	18	5
RN4_55	163	61	43	1	0	9	30	7	30	12
RN4_56	168	44	7	11	4	139	30	20	32	2
RN4_57	131	44	20	5	3	15	64	8	37	6
RN7_75	12	81	12	4	21	13	53	83	49	18
RN7_76	22	47	3	0	23	10	27	24	17	125
RN7_77	38	53	17	1	15	31	22	22	29	38
RN7_80	17	139	58	7	38	2	23	10	38	79
RN7_81	4	229	3	8	166	13	65	34	27	187
RN7_82	6	68	1	6	37	20	69	34	39	72
RN7_83	20	121	7	9	26	29	58	64	20	48
RN7 86	23	186	50	16	68	25	104	6	67	35
RN7 87	45	63	18	2	9	10	32	88	32	6
RN7 88	149	61	46	0	5	62	18	25	27	6
RN7 89	98	50	24	3	4	67	28	0	54	7
RN7 90	99	36	22	4	2	59	18	2	31	8
RN7 93	264	109	84	2	10	159	10	4	34	28
RN7 94	56	85	45	4	2	33	39	0	64	23
RN7 95	97	147	21	3	5	0	13	6	14	115
RN7 96	66	70	39	2	13	4	22	5	24	52
RN7 97	329	70	26	2	3	122	29	9	11	12
RN7 100	110	62	14	4	7	39	87	6	37	33
minimum	3	8	0	0	0	0	5	0	7	0
maximum	329	229	84	16	166	159	104	98	93	187
median	75	61	18	4	17	25	29	22	30	12
Coefficient of		v.	10	т	11					
variation	86%	66%	105%	83%	170%	97%	69%	93%	53%	136%

Sample	Unclassified_Proteobacteria	Armatimonadetes	Gemmatimonadetes	Acidobacteria_Gp6	Acidobacteria_Gp7	Acidobacteria_Gp13	Acidobacteria_Gp5	Unclassified_Acidobacteria	Acidobacteria_Gp3
	number of sequences	number of sequences	number of sequences	number of sequences	number of sequences	number of sequences	number of sequences	number of sequences	number of sequences
RN34_1	26	13	7	10	2	4	1	1	2
RN34_2	16	16	21	5	9	12	1	3	1
RN34_3	15	27	18	11	5	10	1	1	4
RN34_6	18	32	25	6	13	12	2	3	2
RN34_7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
RN34_8	16	13	9	11	6	11	9	1	0
RN34_9	19	30	22	11	11	3	9	2	2
RN34_10	22	26	20	13	13	5	5	1	1
RN34_13	22	18	36	2	12	0	0	2	0
RN4_36	14	35	1	3	7	2	2	2	0
RN4_37	10	22	8	5	10	2	1	2	1
RN4_40	5	18	18	1	3	4	0	0	0
KN4_41	4	19	11	6	6	3	0	0	3
RN4_42	8	21	15	8	6	5	0	0	2
KN4_46	17	5	2	11	0	2	1	5	0
KN4_47	16	5	2	3	0	3	3	2	1
KN4_50 DN4_51	22	5	4	3	4	2	2	3	0
KIN4_51 DN4_54	21	0	0	15	2	1	/	1	Î
KIN4_54 DN4_55	32	10	12	14	2	3	8	0	8
KIN4_55 DN4_56	28	20	4	12	3	3	2	1	2
RN4_50 DN4_57	15	20	15	19	3	4	3	2	1
RN4_57 DN7 75	22	17	9	15	10	1	8	5	2
RN7_75	17	23	9	15	15	0	0	0	2
DN7 77	0	18	7	3	8	1	1	1	0
RN7_77	19	8	7	4	6	3	2	1	1
RN7_81	19	21	1	4	16	0	0	0	1
RN7 82	11	20	10	4	19	0	2	0	0
RN7 83	19	20	24	6	23	1	-	1	1
RN7 86	19	23	30	4	10	4	0	1	1
RN7 87	26	25	33	13	20	0	5	1	1
RN7 88	15	15	12	8	1	4	3	4	1
RN7 89	27	4	2	9	0	6	3	2	1
RN7_90	9	12	12	8	3	3	2	2	1
RN7_93	23	4	1	11	0	1	3	5	1
RN7_94	14	13	13	3	7	3	0	0	2
RN7_95	22	6	4	4	6	0	3	3	0
RN7_96	30	2	1	3	2	0	5	0	0
RN7_97	59	11	7	17	9	5	7	5	1
RN7_100	22	10	6	4	9	7	6	4	1
minimum	4	2	1	0	0	0	0	0	0
maximum	67	35	36	34	23	12	9	5	6
median	19	16	9	6	6	3	2	1	1
Coefficient of	50%	550/	70%	70%	810/	04%	05%	03%	104%
variation	3770	33 70	1370	1370	01 70	24 70	73 /0	73 /0	10470

Sample	Ascomycota	Basidiomycota	Unknown_F	Environmental_F	Unclassified_F	Chytridiomycota	Glomeromycota	Blastocladiomycota	Cryptomycota	Neocallimastigomycota
	number of sequences									
RN34_1	859	1564	116	193	95	107	57	4	2	3
RN34_2	1074	1333	227	171	67	56	60	10	2	0
RN34_3	931	1263	144	266	128	142	115	6	5	2
RN34_6	1267	989	208	169	105	144	108	8	2	0
RN34_7	976	1452	78	152	132	122	83	2	3	0
RN34_8	1089	1242	135	206	114	129	71	11	3	0
RN34_9	1092	1066	227	216	105	132	152	3	6	1
RN34_10	1360	905	254	155	121	91	102	8	4	0
RN34_13	1218	1030	94	273	99	204	74	3	5	0
RN4_36	1201	1128	63	218	118	135	128	4	4	1
RN4_37	1521	1091	78	102	45	48	103	8	3	0
KN4_40	1592	/51	18/	149	83	72	149	14	3	0
KN4_41	1154	1017	293	205	139	89	86	14	2	1
RN4_42	1140	1154	100	228	110	107	19	12	3	1
RN4_40 DN4_47	1005	495	317	32	199	4/	83	2	2	0
RN4_47 RN4_50	1222	704	281	130	95	78	62	8	2	0
RN4_50	1138	1183	173	219	120	104	53	5	5	0
RN4_51 RN4_54	1130	1105	417	80	80	62	69	0	1	0
RN4_55	1141	1141	209	192	146	84	43	4	3	2
RN4_55	922	1352	90	260	157	136	75	5	3	0
RN4 57	1148	1208	138	194	95	99	105	6	7	0
RN7 75	1259	1076	421	64	36	51	91	1	1	0
RN7 76	1274	816	498	132	55	100	98	5	1	0
RN7 77	1069	620	150	98	59	52	81	2	1	0
RN7_80	1354	818	392	136	70	82	134	11	3	0
RN7_81	1438	575	434	150	45	180	140	35	3	0
RN7_82	1758	623	191	152	95	74	99	7	1	0
RN7_83	1166	1106	248	138	80	165	91	3	3	0
RN7_86	ND									
RN7_87	1377	959	299	164	80	82	33	4	2	0
RN7_88	1976	495	158	115	88	39	120	8	1	0
RN7_89	1216	1154	88	219	103	143	70	3	4	0
RN7_90	1237	1084	164	193	156	94	63	2	6	1
RN7_93	1660	839	178	79	79	64	72	29	0	0
RN7_94	1476	1007	67	203	72	90	82	0	2	1
RN7_95	1430	1260	62	60	74	52	39	18	0	5
RN7_96	1804	663	187	121	51	76	81	16	1	0
RN7_97	1210	1104	202	196	133	94	54	5	1	0
RN7_100	1570	741	244	116	103	105	108	8	5	0
minimum	859	495	62	52	30 100	39	33 152	0	0	0
maximum	1976	1564	517	2/3	199	204	152	35	7	5
median	1222	10/6	187	155	95	91	82	5	3	U
Coefficient of variation	20%	26%	57%	36%	35%	40%	34%	96%	63%	226%

Sample	d7_BR	d7_SM	d7_PE	d42_BR	d42_SM	d42_PE
	µg C. g <sup>-1</sup> soil. h	g C. g <sup>-1</sup> soil. h				
RN34_1	0.3963	2.3962	0.2828	0.1987	0.4191	0.1061
RN34_2	0.3155	1.1838	0.345	0.3533	0.3711	0.0581
RN34_3	0.25	1.12	0.25	0.18	0.4	0.17
RN34_6	0.39	1.4518	0.2837	0.3301	0.2576	-0.0465
RN34_7	0.1654	0.9159	0.1778	0.0869	0.3811	0.1886
RN34_8	0.2951	1.7043	0.3033	0.2156	0.3606	0.075
RN34_9	0.3781	1.9227	0.2723	0.3052	0.4673	0.1139
RN34_10	0.37	1.4	0.34	0.28	0.32	0.04
RN34_13	0.5204	2.2513	0.276	0.3408	0.2418	-0.0278
RN4_36	0.1876	1.2323	0.1488	0.1014	0.4358	0.1221
RN4_37	0.27	1.12	0.22	0.21	0.47	0.15
RN4_40	0.2493	1.1017	0.2017	0.1473	0.6848	0.3828
RN4_41	0.3161	1.2812	0.2155	0.2026	0.6287	0.3251
RN4_42	0.32	0.98	0.2	0.2	0.48	0.26
RN4_46	0.3736	1.4798	0.3137	0.2559	0.3182	0.1074
RN4_47	0.68	1.34	0.24	0.42	0.49	0.16
RN4_50	0.7095	1.6984	0.3288	0.4453	0.3389	0.0635
RN4_51	0.6	1.27	0.26	0.35	0.47	0.14
RN4_54	0.5179	1.1591	0.3331	0.49	0.5296	0.1297
RN4_55	0.5599	1.4046	0.4376	0.4966	0.4095	0.0826
RN4_56	0.2643	2.0854	0.345	0.2727	0.4837	0.1192
RN4_57	0.6602	1.9592	0.4516	0.9664	0.5133	-0.1485
RN7_75	0.5755	2.3076	0.2566	0.4949	0.5443	0.0778
RN7_76	0.3733	2.5549	0.2954	0.3942	0.5362	0.0852
RN7_77	0.31	1.89	0.27	0.31	0.7	0.18
RN7_80	0.7754	2.2664	0.3319	0.7563	0.5251	0.0021
RN7_81	0.4396	2.1024	0.2638	0.4143	0.55	0.1167
RN7_82	0.3314	1.7828	0.1592	0.2666	0.5247	0.1305
RN7_83	0.39	1.8	0.27	0.33	0.5	0.11
RN7_86	0.2563	2.5594	0.2749	0.2883	0.5651	0.1263
RN7_87	0.3393	1.6665	0.2447	0.2662	0.4458	0.1076
KN7_88	0.4/1	1.4/32	0.2792	0.3595	0.432	0.1216
KIN7_69 DN7_00	0.4975	2.0788	0.5394	0.4223	0.4451	0.1149
KIN7_90 DN7_02	0.45	1.5044	0.34	0.52	0.41	0.14
RN7_93	0.5902	2 124	0.2443	0.7623	0.3434	-0.0397
RN7_94	1.0424	1 6017	0.3205	0.4034	0.3907	0.0421
RN7_96	0.7959	1 4455	0.3599	0.6015	0.4908	0.1358
RN7_97	0.79	1.05	0.38	0.64	0.4500	0.06
RN7 100	0.6796	1.4329	0.3006	0.5832	0.3531	-0.0012
minimum	0.165	0.916	0.149	0.087	0.242	-0.149
maximum	1.042	2.559	0.452	0.966	0.705	0.383
median	0.396	1.594	0.276	0.331	0.446	0.114
Coefficient of		2021	<b>35</b> 07		0001	000
variation	44%	28%	25%	52%	23%	89%

All explanatory variables (physicochemical and microbial) were measured before incubation

All C mineralization rates were measured after 7 and 42 days of incubation (d7 and d42)

Abrevations list: DD: Decimal degree; MAP: Mean annual precipitation; MAT: Mean annual temperature; BD: Bulk Density; CEC: Cation exchange capacity; ox Al: amorphous aliuminium extracted by oxalate; ox Fe: amorphous iron extracted by oxalate; tot: total; C:N: Carbon-to-Nitrogen ratio; min: mineral; av: available; MBP: microbial biomass phosphorus; MMB: microbial molecular biomass; F:B: Fungi-to-Bacteria ratio; \_B: Bacteria; \_F: Fungi; BR: basal respiration; SM: Straw mineralization; PE: Priming Effect; ND: not determined. Annexe 3 : Dataset 2 du chapitre II

Variables	altitude	MAP	MAT	BD	clay	silt	sand	Kaolinite	Gibbsite	soil humidity	pH	CEC	ox Al	ox Fe	tot C	tot N	tot P	soil C:N	Nmin	avP	MBP	MMB	DNA16S	DNA185
altitude	1	-0.136	-0.954	-0.487	0.388	-0.381	-0.285	-0.085	0.697	0.495	-0.318	-0.442	0.477	0.214	0.755	0.686	0.297	0.511	-0.015	0.000	0.537	0.517	0.332	0.352
MAP	-0.136	1	0.307	-0.214	0.347	-0.02	-0.365	-0.02	0.135	0.221	0.42	0.079	0.261	0.357	0.009	0.117	-0.023	-0.349	-0.016	-0.635	-0.058	0.041	0.079	0.185
ΜΔΤ	-0.955	0.307	1	0.461	-0.398	0.35	0.32	0.061	-0.663	-0.552	0.29	0.349	-0.364	-0.13	-0 738	-0.659	-0.365	-0 514	-0.013	-0.16	-0 593	-0 539	-0.379	-0.331
RD	0.355	0.307	0.461	1	0.550	0.199	0.52	0.001	0.005	0.709	0.061	0.345	0.445	0.462	0.550	0.694	0.000	0.100	0.015	0.212	0.333	0.555	0.075	0.331
alau	0.200	0.247	0.209	0.002	1	0.260	0.500	0.112	0.334	0.764	0.101	0.103	0.313	0.388	0.534	0.034	0.205	0.050	0.049	0.251	0.440	0.000	0.45	0.53
Cidy	0.366	0.347	-0.350	-0.602	1	-0.303	-0.96	0.112	0.234	0.764	0.101	-0.192	0.212	0.288	0.524	0.031	0.335	-0.069	0.048	-0.251	0.469	0.046	0.055	0.555
slit	-0.381	-0.02	0.35	0.188	-0.303	1	0.087	-0.043	-0.281	-0.154	0.412	0.2	-0.238	0.036	-0.517	-0.487	-0.222	-0.332	-0.092	-0.216	-0.32	-0.344	-0.267	-0.295
sand	-0.285	-0.365	0.32	0.588	-0.96	0.087	1	-0.107	-0.166	-0.77	-0.232	0.145	-0.154	-0.319	-0.405	-0.528	-0.356	0.174	-0.023	0.333	-0.405	-0.589	-0.62	-0.481
Kaolinite	-0.086	-0.02	0.061	0.2	0.112	-0.043	-0.107	1	-0.406	-0.037	0.089	0.093	-0.049	-0.209	-0.211	-0.119	-0.068	-0.351	-0.056	-0.156	-0.033	-0.144	0.056	-0.032
Gibbsite	0.698	0.135	-0.663	-0.456	0.234	-0.281	-0.166	-0.406	1	0.342	-0.166	-0.385	0.311	0.382	0.573	0.409	0.387	0.616	-0.229	-0.099	0.379	0.356	0.187	0.309
soil humidity	0.496	0.221	-0.552	-0.709	0.764	-0.154	-0.77	-0.037	0.342	1	0.116	-0.109	0.286	0.37	0.608	0.698	0.502	-0.014	0.113	-0.265	0.506	0.663	0.646	0.428
pH	-0.319	0.42	0.29	-0.061	0.101	0.412	-0.232	0.089	-0.166	0.116	1	0.348	-0.004	0.1	-0.171	-0.079	-0.346	-0.387	-0.046	-0.255	0.069	0.051	0.182	0.12
CEC	-0.442	0.079	0.349	0.268	-0.192	0.2	0.145	0.093	-0.385	-0.109	0.348	1	-0.315	-0.132	-0.132	-0.093	-0.125	-0.296	0.085	0.226	0.104	0.042	-0.018	-0.126
ox Al	0.478	0.261	-0.364	-0.445	0.212	-0.238	-0.154	-0.049	0.311	0.286	-0.004	-0.315	1	0.376	0.357	0.339	0.108	0.237	0.111	-0.223	-0.048	0.139	0.142	0.067
ox Fe	0.214	0.357	-0.13	-0.462	0.288	0.036	-0.319	-0.209	0.382	0.37	0.1	-0.132	0.376	1	0.255	0.214	0.406	0.216	-0.088	-0.417	-0.01	0.221	0.126	0.104
tot C	0.755	0.000	0.729	0.669	0.524	0 517	-0.405	0.211	0 572	0.609	0.171	0.122	0.357	0.255	1	0.947	0.445	0.499	0.080	0.211	0.729	0.729	0.454	0.202
tot c	0.735	0.003	-0.738	-0.003	0.524	-0.317	0.538	-0.211	0.373	0.008	-0.171	-0.132	0.330	0.233	0.047	0.347	0.443	0.435	-0.085	0.211	0.738	0.723	0.434	0.302
LUL N	0.000	0.117	-0.859	-0.694	0.051	-0.467	-0.528	-0.119	0.403	0.098	-0.079	-0.095	0.339	0.214	0.947	1	0.425	0.215	0.005	0.105	0.714	0.742	0.505	0.501
tot P	0.298	-0.023	-0.305	-0.437	0.395	-0.222	-0.350	-0.068	0.367	0.502	-0.540	-0.125	0.108	0.406	0.445	0.423	1	0.196	0.079	-0.018	0.269	0.392	0.287	0.1/1
SOILC:N	0.512	-0.349	-0.514	-0.199	-0.069	-0.332	0.174	-0.351	0.616	-0.014	-0.387	-0.296	0.237	0.216	0.499	0.215	0.196	1	-0.253	0.379	0.289	0.188	0.023	-0.045
Nmin	-0.015	-0.016	-0.013	0.1	0.048	-0.092	-0.023	-0.056	-0.229	0.113	-0.046	0.085	0.111	-0.088	-0.089	0.005	0.079	-0.253	1	0.144	-0.1	-0.037	0.051	-0.049
avP	0.000	-0.635	-0.16	0.212	-0.251	-0.216	0.333	-0.156	-0.099	-0.265	-0.255	0.226	-0.223	-0.417	0.211	0.103	-0.018	0.379	0.144	1	0.272	0.122	0.042	-0.075
MBP	0.537	-0.058	-0.593	-0.447	0.469	-0.32	-0.405	-0.033	0.379	0.506	0.069	0.104	-0.048	-0.01	0.738	0.714	0.269	0.289	-0.1	0.272	1	0.797	0.552	0.407
MMB	0.517	0.041	-0.539	-0.608	0.648	-0.344	-0.589	-0.144	0.356	0.663	0.051	0.042	0.139	0.221	0.729	0.742	0.392	0.188	-0.037	0.122	0.797	1	0.822	0.653
DNA16S	0.333	0.079	-0.379	-0.45	0.655	-0.267	-0.62	0.056	0.187	0.646	0.182	-0.018	0.142	0.126	0.454	0.505	0.287	0.023	0.051	0.042	0.552	0.822	1	0.769
DNA185	0.352	0.185	-0.331	-0.3	0.533	-0.295	-0.481	-0.032	0.309	0.428	0.12	-0.126	0.067	0.104	0.302	0.361	0.171	-0.045	-0.049	-0.075	0.407	0.653	0.769	1
F:B	0.112	0.207	-0.027	0.174	-0.139	0.033	0.139	-0.141	0.265	-0.225	-0.04	-0.117	-0.099	-0.055	-0.082	-0.098	-0.135	-0.006	-0.235	-0.155	-0.005	-0.16	-0.28	0.338
OTU B	-0.306	-0.097	0.216	0.411	-0.283	0.401	0.182	-0.012	-0.308	-0.192	0.241	0.377	-0.326	-0.419	-0.452	-0.355	-0.409	-0.435	0.213	0.102	-0.216	-0.136	0.07	0.199
Evenness B	-0.376	0.17	0.335	0.387	-0.194	0.401	0.087	0.001	-0.324	-0.235	0.224	0.253	-0.142	-0.267	-0.585	-0.477	-0.457	-0.5	0.269	-0.149	-0.408	-0.287	-0.095	0.098
OTU F	-0.370	0.32	0.104	0.002	0.154	-0.102	-0.087	0.001	0.032	0.088	-0.066	-0.135	0.007	-0.207	-0.303	-0.073	0.039	-0.5	0.205	-0.338	-0.242	-0.267	-0.033	0.162
GIO_I	-0.030	0.32	0.104	0.002	0.107	-0.102	-0.087	0.003	0.032	0.068	-0.000	-0.133	0.007	-0.105	-0.227	-0.073	0.196	-0.303	0.178	0.001	-0.242	-0.007	-0.043	0.102
Evenness_r	0.244	-0.164	-0.190	-0.17	0.107	0.341	-0.012	0.017	0.011	0.208	-0.204	-0.102	0.038	-0.085	0.105	0.235	0.100	-0.076	-0.05	0.001	0.126	0.502	0.34	0.174
Proteobacteria	0.705	-0.244	-0.747	-0.504	0.316	-0.312	-0.231	-0.122	0.555	0.516	-0.261	-0.093	0.120	0.099	0.779	0.689	0.501	0.465	-0.120	0.235	0.766	0.633	0.380	0.239
Planctomycetes	0.510	0.234	-0.457	-0.221	0.36	-0.193	-0.327	-0.101	0.474	0.301	-0.133	-0.287	0.142	0.165	0.25	0.295	-0.01	0.016	-0.034	-0.373	0.205	0.306	0.172	0.55
Acidobacteria	0.644	0.147	-0.654	-0.628	0.593	-0.271	-0.561	-0.026	0.568	0.719	-0.107	-0.313	0.423	0.433	0.744	0.703	0.638	0.326	-0.0149	-0.154	0.553	0.670	0.553	0.411
Unknown_B	-0.711	0.267	0.724	0.38	-0.216	0.304	0.139	0.179	-0.618	-0.388	0.384	0.236	-0.114	-0.109	-0.739	-0.63	-0.512	-0.526	0.218	-0.214	-0.666	-0.541	-0.259	-0.274
Actinobacteria	-0.434	-0.558	0.358	0.515	-0.759	0.343	0.708	-0.009	-0.39	-0.635	-0.043	0.246	-0.409	-0.459	-0.452	-0.532	-0.336	0.047	-0.095	0.446	-0.282	-0.508	-0.485	-0.508
Chloroflexi	-0.565	0.409	0.675	0.324	-0.15	0.081	0.136	0.159	-0.423	-0.458	0.176	0.088	-0.024	0.077	-0.523	-0.456	-0.347	-0.328	0.052	-0.31	-0.572	-0.52	-0.383	-0.289
Alphaproteobacteria	0.716	-0.233	-0.715	-0.376	0.201	-0.374	-0.102	-0.121	0.582	0.39	-0.303	-0.176	0.003	-0.04	0.656	0.599	0.372	0.377	-0.111	0.159	0.728	0.516	0.253	0.275
Acidobacteria Gp1	0.601	-0.03	-0.631	-0.498	0.497	-0.334	-0.431	0.001	0.398	0.622	-0.132	-0.2	0.355	0.219	0.69	0.639	0.537	0.34	0.142	0.042	0.572	0.587	0.483	0.236
Gammaproteobacteria	0.731	-0.094	0.747	-0.502	0.364	-0.388	-0.272	-0.003	0.645	0.476	-0.293	-0.297	0.442	0.319	0.738	0.59	0.567	0.608	-0.122	0.043	0.509	0.441	0.284	0.106
Deltaproteobacteria	0.121	-0.101	-0.142	-0.377	0.328	-0.094	-0.323	-0.302	-0.024	0.42	0.146	0.172	-0.044	0.12	0.415	0.462	0.21	0.054	0.014	0.3	0.498	0.593	0.459	0.249
Acidobactoria Gn2	0.541	0.254	0.495	0.556	0.422	0.034	-0.397	0.191	0.692	0.526	0.179	-0.394	0.372	0.55	0.576	0.521	0.52	0.339	0.014	0.260	0.450	0.000	0.368	0.449
Actobacteria_Opz	0.004	0.234	0.153	0.13	0.432	-0.210	0.030	-0.101	0.083	0.320	-0.178	0.004	0.371	0.33	0.370	0.179	0.110	0.164	-0.27	-0.203	0.311	0.452	0.154	0.096
Betaproteobacteria	0.004	-0.528	-0.155	-0.12	-0.054	0.094	0.029	-0.095	-0.148	0.106	-0.067	0.455	-0.271	-0.229	0.227	0.178	0.118	0.164	-0.095	0.050	0.35	0.262	0.154	-0.060
Burkholderlaceae	0.498	-0.177	-0.5/9	-0.447	0.280	-0.232	-0.222	0.051	0.360	0.395	-0.363	-0.174	0.076	0.007	0.559	0.464	0.528	0.318	-0.013	0.061	0.476	0.415	0.242	0.164
Comamonadaceae	-0.022	-0.160	-0.012	-0.148	0.007	0.131	-0.062	-0.257	-0.035	0.053	0.074	0.030	-0.035	-0.178	-0.119	-0.057	-0.026	-0.206	0.251	0.178	-0.094	-0.026	0.069	0.056
Oxalobacteraceae	-0.303	-0.469	0.220	0.234	-0.331	0.058	0.351	-0.141	-0.305	-0.324	-0.117	0.362	-0.260	-0.284	-0.125	-0.216	-0.120	0.195	-0.080	0.679	-0.127	-0.152	-0.102	-0.235
Crenarchaeota	0.254	0.169	-0.238	-0.228	0.402	-0.134	-0.389	0.048	0.245	0.356	-0.278	-0.353	0.198	0.129	0.195	0.259	0.439	-0.142	0.062	-0.213	-0.041	0.261	0.35	0.302
Bacteroidetes	-0.329	-0.139	0.215	0.267	-0.323	0.364	0.235	-0.153	-0.11	-0.116	0.458	0.447	-0.191	-0.187	-0.286	-0.304	-0.152	-0.123	0.028	0.275	-0.09	-0.091	0.155	0.1
Acidobacteria_Gp4	-0.715	0.207	0.717	0.305	-0.178	0.593	0.012	0.159	-0.6	-0.376	0.505	0.283	-0.307	-0.043	-0.652	-0.519	-0.377	-0.6	-0.114	-0.211	-0.492	-0.427	-0.265	-0.158
Firmicutes	0.079	-0.077	-0.147	0.261	-0.136	-0.168	0.196	0.132	-0.019	-0.01	-0.364	0.033	0.008	-0.379	-0.113	-0.081	0.079	-0.119	0.546	0.121	-0.117	-0.148	-0.052	-0.055
Verrucomicrobia	-0.082	-0.631	-0.008	0.152	-0.293	0.008	0.311	-0.053	-0.264	-0.205	-0.043	0.342	-0.3	-0.308	0.116	0.014	-0.098	0.325	-0.086	0.777	0.282	0.101	0.006	-0.273
Unclassified Proteobacteria	0.437	-0.053	-0.468	-0.326	0.146	-0.142	-0.113	-0.304	0.584	0.378	-0.081	-0.137	-0.042	0.14	0.412	0.375	0.294	0.198	-0.062	0.129	0.436	0.417	0.264	0.442
Armatimonadetes	-0.698	0.003	0.659	0.415	-0.274	0.515	0.138	0.123	-0.633	-0.333	0.316	0.275	-0.348	-0.219	-0.742	-0.611	-0.441	-0.639	0.048	-0.098	-0.564	-0.376	-0.159	-0.083
Germatimonadetes	-0.164	0.048	0.163	0.013	0.196	0.252	-0.285	0.084	-0.4	0.128	0.176	-0.089	-0.022	-0.094	-0.352	-0.152	-0.24	-0.551	0.267	-0.285	-0.37	-0.165	-0.004	0.098
Acidobacteria Gn6	0.241	0.162	-0.236	-0.187	0.078	-0.012	-0.08	-0.271	0.596	0.07	-0.097	-0.311	0.018	0.184	0.082	0.075	0.204	0.043	-0.105	-0.181	0.061	0.138	0.046	0.374
Acidobacteria_Gp0	-0.329	-0.441	0.196	0.207	-0.204	0.481	0.073	0.016	-0 535	-0.094	0.29	0.196	-0.296	-0.265	-0.36	-0.265	-0.262	-0.32	0.095	0.321	-0.22	-0.141	0.003	-0.11
Acidobactoria Co12	0.144	0.252	0.150	0.272	0.160	0.024	0.073	0.010	0.353	0.142	0.122	0.150	-0.250	0.095	0.30	0.0203	0.203	0.32	0.035	0.321	0.152	0.059	0.003	0.269
Acidobacteria_Op15	-0.144	0.12	0.205	-0.074	0.109	0.004	-0.191	0.076	-0.155	0.145	0.125	-0.149	-0.05	0.000	-0.136	-0.029	-0.003	-0.372	0.01	-0.433	-0.152	0.056	0.103	0.000
Acidobacteria_opp	0.330	0.15	-0.351	-0.022	0.230	-0.090	-0.223	-0.075	0.402	0.1//	-0.007	-0.145	0.055	-0.000	0.1//	0.104	0.092	0.007	-0.247	-0.047	0.329	0.300	0.505	0.030
Unclassified_Acidobacteria	0.345	0.164	-0.344	-0.478	0.447	-0.039	-0.466	-0.076	0.403	0.598	0.025	-0.11	0.311	0.622	0.43	0.416	0.475	0.169	-0.121	-0.259	0.294	0.511	0.585	0.398
Acidobacteria_Gp3	-0.064	0.209	0.075	-0.038	0.095	-0.133	-0.062	0.013	-0.001	-0.078	-0.071	-0.074	-0.067	-0.031	-0.076	-0.038	-0.109	-0.131	0.04	-0.12	-0.077	0.043	0.031	0.391
Ascomycota	0.117	-0.142	-0.224	-0.143	0.258	-0.073	-0.254	0.225	0.113	0.158	0.14	0.029	-0.01	0.091	0.296	0.175	0.149	0.398	-0.129	0.25	0.302	0.16	0.216	-0.033
Basidiomycota	-0.077	0.408	0.138	-0.034	0.001	0.107	-0.034	-0.129	-0.007	0.074	0.105	0.122	0.023	-0.075	-0.077	0.076	-0.037	-0.463	0.215	-0.317	-0.009	0.037	-0.093	0.105
Unknown_F	0.155	-0.347	-0.11	-0.002	-0.22	-0.153	0.281	0.049	0.023	-0.232	-0.206	-0.242	0.139	0.192	0.093	-0.012	-0.041	0.403	-0.317	0.247	-0.096	-0.043	-0.058	-0.005
Environmental_F	-0.191	0.26	0.234	0.091	-0.058	-0.011	0.065	-0.115	-0.068	-0.009	0.022	0.007	0.029	-0.197	-0.347	-0.216	-0.073	-0.488	0.356	-0.246	-0.399	-0.244	-0.155	-0.013
Unclassified_F	0.189	0.41	-0.089	-0.261	0.106	-0.006	-0.111	-0.182	0.431	0.156	0.01	-0.198	0.429	0.594	-0.002	-0.012	0.179	0.015	0.049	-0.473	-0.221	0.033	0.018	0.086
Chytridiomycota	-0.148	-0.057	0.127	0.037	0.01	0.048	-0.025	-0.114	-0.186	0.094	-0.043	0.022	0.014	-0.239	-0.264	-0.174	-0.001	-0.344	0.266	0.087	-0.255	-0.122	0.023	-0.031
Glomeromycota	-0.513	-0.091	0.494	0.237	-0.113	-0.056	0.138	0.199	-0.35	-0.375	0.094	0.132	-0.279	-0.198	-0.478	-0.493	-0.195	-0.164	-0.11	0.172	-0.267	-0.147	0.089	0.108
Blastocladiomycota	-0.133	-0.089	0.104	-0.107	0.136	-0.185	-0.09	0.033	-0.154	-0.017	-0.094	0.237	-0.174	-0.15	0.29	0.259	0.191	0.162	-0.148	0.534	0.317	0.247	0.176	-0.064
Chyntomycota	-0.102	0.229	0.136	-0.044	0.029	-0.03	-0.022	-0.137	0.094	-0.021	0.176	0.008	0.172	-0.079	-0.292	-0.244	-0.085	-0.237	0.092	-0.215	-0.242	-0.033	0.126	0.271
Magaallimaatiaamua	-0.102	0.175	0.030	0.031	0.029	-0.03	-0.022	-0.137	0.13	0.112	0.005	0.000	0.172	0.057	-0.233	0.244	-0.003	-0.237	0.032	0.215	0.242	0.033	0.120	0.271
ineocallimastigomycota	0.011	0.175	-0.026	-0.021	0.119	-0.078	-0.104	0.06	-0.13	0.113	0.095	0.495	-0.124	0.057	0.1/5	0.24	-0.1	-0.17	0.319	0.05	0.369	0.33	0.0/1	-0.057
0/_BR	0.658	-0.125	-0.718	-0.578	0.444	-0.427	-0.346	-0.106	0.505	0.562	-0.147	-0.043	0.154	0.057	0.843	0.775	0.434	0.445	-0.08	0.277	0.882	0.766	0.508	0.316
d7_SM	0.160	-0.617	-0.279	0.219	-0.229	-0.151	0.29	0.066	-0.066	-0.096	-0.513	-0.225	-0.07	-0.312	-0.068	-0.105	0.077	0.151	0.303	0.364	-0.057	-0.129	-0.118	-0.26
d7_PE	0.613	-0.101	-0.534	-0.401	0.168	-0.179	-0.125	-0.384	0.605	0.292	-0.302	-0.336	0.016	0.255	0.481	0.431	0.248	0.337	-0.179	-0.026	0.394	0.403	0.161	0.354
d42_BR	0.575	-0.279	-0.64	-0.494	0.295	<u>-0.383</u>	-0.2	-0.166	0.51	0.409	-0.157	-0.113	-0.041	-0.004	0.715	0.645	0.404	0.428	-0.169	0.359	0.839	0.706	0.466	0.407
d42_SM	-0.332	-0.276	0.311	0.496	-0.356	-0.166	0.431	0.158	-0.268	-0.665	-0.146	0.065	-0.331	-0.417	-0.324	-0.381	-0.289	0.055	-0.208	0.294	-0.178	-0.399	-0.406	-0.277
d42_PE	-0.415	0.277	0.465	0.297	-0.072	-0.043	0.09	0.252	-0.348	-0.392	0.105	0.164	-0.029	-0.023	-0.335	-0.311	-0.286	-0.173	-0.052	-0.175	-0.394	-0.443	-0.395	-0.35

Variables	F:B	OTU_B	Evenness_B	OTU_F	Evenness_F	Proteobacteria	Planctomycetes	Acidobacteria	Unknown_B	Actinobacteria	Chloroflexi	Alphaproteobacteria	Acidobacteria_Gp1	Gammaproteobacteria	Deltaproteobacteria	Acidobacteria_Gp2	Betaproteobacteria
altitude	0.111	-0.306	-0.375	-0.035	0.243	0.705	0.510	0.644	-0.710	-0.434	-0.564	0.716	0.600	0.730	0.121	0.540	0.004
MAP	0.207	-0.097	0.17	0.32	-0.164	-0.245	0.234	0.147	0.267	-0.558	0.409	-0.233	-0.03	-0.094	-0.101	0.254	-0.528
MAT	-0.027	0.216	0.335	0.104	-0.196	-0.748	-0.457	-0.654	0.724	0.358	0.675	-0.715	-0.631	-0.747	-0.142	-0.485	-0.153
BD	0.174	0.411	0.387	0.002	-0.17	-0.505	-0.221	-0.629	0.38	0.515	0.324	-0.376	-0.498	-0.502	-0.377	-0.556	-0.12
clay	-0.139	-0.283	-0.194	0.11	0.107	0.316	0.36	0.593	-0.216	-0.759	-0.15	0.201	0.497	0.364	0.328	0.432	-0.054
silt	0.033	0.401	0.401	-0.102	-0.341	-0.312	-0.193	-0.272	0.304	0.343	0.081	-0.374	-0.334	-0.388	-0.094	-0.216	0.094
sand	0.139	0.182	0.087	-0.087	-0.012	-0.232	-0.327	-0.562	0.139	0.708	0.136	-0.102	-0.431	-0.272	-0.323	-0.397	0.029
Kaolinite	-0.141	-0.012	0.001	0.003	0.017	-0.122	-0.101	-0.027	0.179	-0.009	0.159	-0.121	0.001	-0.003	-0.302	-0.181	-0.093
Gibbsite	0.265	-0.308	-0.324	0.032	0.011	0.554	0.474	0.569	-0.618	-0.39	-0.423	0.582	0.398	0.645	-0.024	0.683	-0.148
soil humidity	-0.225	-0.192	-0.235	0.088	0.268	0.517	0.301	0.719	-0.388	-0.635	-0.458	0.39	0.622	0.476	0.42	0.526	0.106
pH	-0.04	0.241	0.224	-0.066	-0.204	-0.261	-0.133	-0.108	0.384	-0.043	0.176	-0.303	-0.132	-0.293	0.146	-0.178	-0.067
CEC	-0.117	0.377	0.253	-0.135	-0.102	-0.093	-0.287	-0.313	0.236	0.246	0.088	-0.176	-0.2	-0.297	0.172	-0.394	0.435
ox Al	-0.099	-0.326	-0.142	0.007	0.038	0.121	0.142	0.423	-0.114	-0.409	-0.024	0.003	0.355	0.442	-0.044	0.372	-0.271
ox Fe	-0.055	-0.419	-0.267	-0.105	-0.083	0.099	0.165	0.434	-0.109	-0.459	0.024	-0.04	0.219	0.319	0.12	0.55	-0.229
tot C	-0.082	-0.452	-0.585	-0.227	0.165	0.779	0.25	0.745	-0 739	-0.452	-0 523	0.656	0.69	0.738	0.415	0.576	0.223
tot N	-0.002	-0.355	-0.477	-0.073	0.235	0.689	0.295	0 704	-0.63	-0 532	-0.456	0.599	0.639	0.59	0.462	0.570	0.178
tot P	-0.135	-0.409	-0.457	0.075	0.186	0.502	-0.01	0.638	-0 512	-0.336	-0.347	0.372	0.537	0.567	0.21	0.52	0.178
soil C·N	-0.006	-0.435	-0.457	-0.509	-0.076	0.484	0.016	0.326	-0.512	0.047	-0.328	0.377	0.34	0.509	0.054	0.32	0.164
Nmin	0.000	0.212	0.260	0.170	0.070	0.120	0.024	0.015	0.310	0.047	0.0520	0.111	0.142	0.132	0.014	0.335	0.005
avB	-0.233	0.213	0.209	-0.228	-0.03	-0.120	-0.034	-0.013	0.218	-0.095	0.032	-0.111	0.142	-0.122	0.014	-0.27	-0.093
MPD	-0.133	0.102	-0.149	0.242	0.126	0.230	0.375	-0.133	-0.214	0.292	-0.31	0.133	0.042	0.045	0.3	-0.205	0.050
IVIDP	-0.005	-0.210	-0.408	-0.242	0.120	0.766	0.205	0.553	-0.000	-0.282	-0.572	0.728	0.572	0.509	0.496	0.511	0.35
DNA1CC	-0.10	-0.130	-0.287	-0.067	0.302	0.034	0.300	0.670	-0.541	-0.508	-0.52	0.516	0.587	0.441	0.595	0.492	0.262
DNA105	-0.28	0.07	-0.095	-0.043	0.174	0.330	0.172	0.554	-0.259	-0.485	-0.383	0.255	0.465	0.264	0.459	0.308	0.154
DNA185	0.338	0.199	0.098	0.162	0.174	0.239	0.55	0.412	-0.274	-0.508	-0.289	0.275	0.236	0.106	0.249	0.449	-0.086
F:B	1	0.086	0.193	0.157	-0.294	-0.066	0.552	-0.063	-0.175	-0.1	0.056	0.126	-0.242	-0.122	-0.236	0.235	-0.282
	0.086	1	0.809	0.201	-0.028	-0.334	0.11/	-0.490	0.367	0.334	-0.059	-0.209	-0.435	-0.589	-0.105	-0.442	0.147
Evenness_B	0.193	0.809	1	0.299	-0.131	-0.556	0.21	-0.514	0.565	0.045	0.255	-0.45	-0.479	-0.601	-0.213	-0.42	-0.107
OTU_F	0.157	0.201	0.299	1	0.388	-0.119	0.309	-0.051	0.161	-0.263	0.026	0.029	-0.151	-0.241	-0.072	0.029	-0.27
Evenness_F	-0.294	-0.028	-0.131	0.388	1	0.304	0.02	0.090	-0.082	-0.037	<u>-0.356</u>	0.268	0.082	0.071	0.378	0.025	0.216
Proteobacteria	-0.066	<u>-0.333</u>	-0.555	-0.118	0.303	1	0.089	0.685	-0.865	-0.180	-0.826	0.900	0.735	0.782	0.505	0.373	0.482
Planctomycetes	0.552	0.117	0.21	0.309	0.02	0.089	1	0.190	-0.297	-0.495	-0.126	0.321	0.013	0.081	-0.149	0.453	-0.423
Acidobacteria	-0.062	-0.489	-0.514	-0.050	0.090	0.685	0.189	1	-0.697	-0.643	-0.493	0.537	0.905	0.809	0.342	0.695	-0.004
Unknown_B	-0.175	0.367	0.565	0.161	-0.082	-0.866	-0.297	-0.697	1	0.179	0.728	-0.866	-0.644	-0.75	-0.283	-0.568	-0.215
Actinobacteria	-0.1	0.334	0.045	-0.263	-0.037	-0.180	-0.495	-0.644	0.179	1	-0.067	-0.11	-0.476	-0.36	-0.176	-0.604	0.366
Chloroflexi	0.056	-0.059	0.255	0.026	<u>-0.356</u>	-0.827	-0.126	-0.493	0.728	-0.067	1	-0.782	-0.552	-0.564	-0.429	-0.245	-0.535
Alphaproteobacteria	0.126	-0.209	-0.45	0.029	0.268	0.901	0.321	0.538	-0.866	-0.11	-0.782	1	0.564	0.635	0.292	<u>0.345</u>	0.245
Acidobacteria_Gp1	-0.242	-0.435	-0.479	-0.151	0.082	0.735	0.013	0.905	-0.644	-0.476	-0.552	0.564	1	0.828	0.389	0.347	0.135
Gammaproteobacteria	-0.122	-0.589	-0.601	-0.241	0.071	0.783	0.081	0.810	-0.75	-0.36	-0.564	0.635	0.828	1	0.115	0.508	0.107
Deltaproteobacteria	-0.236	-0.105	-0.213	-0.072	0.378	0.505	-0.149	0.342	-0.283	-0.176	-0.429	0.292	0.389	0.115	1	0.052	0.553
Acidobacteria_Gp2	0.235	-0.442	-0.42	0.029	0.025	0.374	0.453	0.695	-0.568	-0.604	-0.245	0.345	0.347	0.508	0.052	1	-0.22
Betaproteobacteria	-0.282	0.147	-0.107	-0.27	0.216	0.482	-0.423	-0.005	-0.215	0.366	-0.535	0.245	0.135	0.107	0.553	-0.22	1
Burkholderiaceae	-0.006	-0.237	-0.319	-0.090	0.070	0.596	0.111	0.549	-0.552	-0.2411	-0.443	0.538	0.561	0.611	0.005	0.367	0.293
Comamonadaceae	-0.042	0.301	0.259	0.181	0.192	0.098	-0.090	-0.130	0.125	0.161	-0.242	0.017	-0.034	-0.160	0.320	-0.276	0.424
Oxalobacteraceae	-0.211	0.134	-0.028	-0.213	0.130	0.065	-0.588	-0.341	0.131	0.540	-0.158	-0.169	-0.212	-0.159	0.311	-0.399	0.751
Crenarchaeota	-0.094	-0.08	-0.019	0.325	0.208	0.123	0.162	0.447	-0.188	-0.455	-0.204	0.093	0.255	0.28	-0.079	0.548	-0.163
Bacteroidetes	-0.103	0.6	0.339	-0.027	-0.016	-0.049	-0.343	-0.225	0.162	0.393	-0.183	-0.122	-0.119	-0.253	0.216	-0.374	0.354
Acidobacteria_Gp4	0.065	0.357	0.39	0.084	-0.239	-0.690	-0.228	-0.566	0.698	0.283	0.524	-0.699	-0.631	-0.728	-0.114	-0.43	-0.073
Firmicutes	-0.069	0.397	0.401	0.422	0.178	0.039	0.087	-0.060	0.025	-0.008	-0.188	0.155	0.144	0.027	-0.191	-0.265	-0.007
Verrucomicrobia	-0.371	0.012	-0.27	-0.491	0.171	0.331	-0.58	-0.192	-0.138	0.629	-0.367	0.155	-0.005	0.033	0.412	-0.375	0.769
Unclassified Proteobacteria	0.244	0.042	-0.186	0.164	0.103	0.530	0.44	0.360	-0.592	-0.135	-0.561	0.611	0.225	0.298	0.143	0.435	0.091
Armatimonadetes	-0.056	0.6	0.572	0.197	0.003	-0.677	-0.182	-0.634	0.711	0.384	0.355	-0.66	-0.636	-0.808	-0.052	-0.502	0.041
Gemmatimonadetes	0.006	0.418	0.479	0.331	0.055	-0.445	0.261	-0.307	0.479	-0.079	0.262	-0.39	-0.331	-0.547	-0.015	-0.264	-0.096
Acidobacteria Gp6	0.411	0.116	0.117	0.408	0.01	0.084	0.599	0.105	-0.264	-0.251	-0.159	0.28	-0.133	0.022	-0.116	0.476	-0.312
Acidobacteria Gp7	-0.256	0.515	0.301	-0.054	0.137	-0.272	-0.269	-0.420	0.337	0.474	-0.035	-0.34	-0.334	-0.52	0.223	-0.493	0.387
Acidobacteria Gp13	0.266	0.016	0.139	0.416	0.066	-0.157	0.219	0.186	0.079	-0.411	0.137	-0.1	0.049	-0.231	0.252	0.198	-0.307
Acidobacteria Gp5	0.56	0.146	0.177	0.26	0.045	0.217	0.622	0.261	-0.422	-0.35	-0.308	0.333	0.063	0.135	-0.012	0.439	-0.168
Unclassified Acidobacteria	-0.215	-0.162	-0.229	-0.171	0.018	0.386	0.156	0.668	-0.409	-0.485	-0.308	0.24	0.471	0.477	0.268	0.643	-0.002
Acidobacteria Gp3	0.498	0.123	0.158	0.234	0.088	-0.188	0.418	-0.083	0.142	-0.109	0.054	-0.07	-0.152	-0.216	-0.047	0.062	-0.174
Ascomycota	-0.263	-0.288	-0.279	-0.63	-0.355	0.210	-0.26	0.306	-0 174	-0.097	-0.028	-0.002	0.378	0.399	0.028	0.049	0.233
Basidiomycota	0 274	0.309	0 291	0.609	0.091	-0.050	0 347	-0.077	0.009	-0.087	-0.092	0.167	-0.153	-0.257	0.039	0.055	-0.217
Unknown F	0.034	-0.314	-0.363	-0.33	0.28	0.065	-0.038	-0.075	-0.14	0.241	-0.051	0.016	-0.08	0.122	0.064	0.053	0.101
Environmental E	0.034	0.227	0.369	0.879	0.248	-0.275	0.109	-0.225	0.27	-0.055	0.134	-0.159	-0.282	-0.38	-0.164	-0.1/3	-0.223
Unclassified F	0.074	-0.198	0.085	0.398	0.17	-0.113	0.369	0.191	0.079	-0.472	0.199	-0.129	-0.037	0.098	-0.107	0.45	-0.469
Chytridiomycota	-0.160	0.262	0.238	0.602	0.46	-0.002	-0.151	-0.180	0.22	0.137	-0.194	-0.083	-0.137	-0.203	0.225	-0.275	0.274
Glomoromycota	0.109	0.202	0.230	0.002	0.40	-0.002	-0.151	-0.180	0.22	0.157	-0.194	-0.065	-0.132	-0.203	0.225	-0.275	0.2/4
Blastosladiomycota	0.157	0.10	-0.26	0.008	0.015	-0.298	-0.4	0.001	0.922	0.23	0.274	0.012	-0.29	0.050	-0.005	0.027	0.1/2
Countomycota	-0.244	-0.275	0.00	-0.226	0.009	0.152	-0.490	0.091	-0.060	0.021	-0.03	0.015	0.001	0.009	0.439	0.027	0.351
Cryptomycold Negeollimentiagenus:	0.053	0.139	0.48/	0.5/5	0.239	-0.152	0.18	-0.206	0.28	-0.123	0.055	-0.103	-0.2	-0.185	-0.04	-0.104	-0.17
ar pp	-0.16	0.138	0.15	0.044	0.083	0.101	0.145	-0.068	0.035	-0.102	-0.062	0.162	0.021	-0.0/1	0.238	-0.130	0.120
u/_bK	-0.116	- <u>U.322</u>	-0.495	-0.231	0.218	0.848	0.165	0000	-0.748	-0.295	-0.67	0.775	0.693	0.706	0.393	0.202	0.355
u/_SM	-0.312	0.151	0.089	0.11	0.305	0.21/	-0.111	-0.15/	-0.143	0.352	-0.38	0.279	0.083	0.149	-0.041	-0.302	0.259
0/_PE	0.282	-0.163	-0.235	0.146	0.131	0.601	0.543	0.404	-0.676	-0.254	-0.472	0.694	0.298	0.409	0.238	0.441	-0.024
042_BR	0.007	-0.195	-0.454	-0.181	0.235	0.824	0.19	0.514	-0.76	-0.129	-0.686	0.818	0.52	0.547	0.421	0.368	
042_SM	0.119	-0.074	-0.128	-0.192	-0.156	-0.338	-0.261	-0.560	0.248	0.487	0.415	-0.192	-0.456	-0.298	-0.393	-0.372	-0.017\
d42 PE	0.034	-0.236	-0.05	-0.052	-0.268	-0.600	-0.187	-0.416	0.542	0.067	0.734	-0.553	-0.423	-0.319	-0.446	-0.215	-0.372

Variables	Burkholderiaceae	Comamonadaceae	Oxalobacteraceae	Crenarchaeota	Bacteroidetes	Acidobacteria Gp4	Firmicutes	Verrucomicrobia	Unclassified Proteobacteria	Armatimonadetes	Gemmatimonadetes	Acidobacteria Gp6	Acidobacteria Gp7	Acidobacteria Gp13
altitude	0.498	-0.022	-0 303	0.253	-0.329	-0.714	0.078	-0.082	0.436	-0.697	-0.163	0.240	-0.328	-0 144
MAR	-0.178	-0.160	-0.469	0.169	-0 130	0.207	-0.077	-0.631	-0.053	0.003	0.048	0.162	-0.441	0.353
MAT	0.170	-0.100	0.220	0.105	0.155	0.207	0.077	-0.001	0.055	0.005	0.163	0.102	0.100	0.353
MAI	-0.579	-0.012	0.220	-0.238	0.215	0./1/	-0.147	-0.008	-0.468	0.659	0.163	-0.236	0.196	0.263
BD	-0.447	-0.148	0.234	-0.228	0.267	0.305	0.261	0.152	-0.326	0.415	0.013	-0.187	0.272	-0.074
clay	0.280	0.008	-0.331	0.402	-0.323	-0.178	-0.136	-0.293	0.146	-0.274	0.196	0.078	-0.204	0.169
silt	-0.233	0.132	0.059	-0.134	0.364	0.593	-0.168	0.008	-0.142	0.515	0.252	-0.012	0.481	0.034
sand	-0.223	-0.062	0.351	-0.389	0.235	0.012	0.196	0.311	-0.113	0.138	-0.285	-0.08	0.073	-0.191
Kaolinite	0.051	-0.258	-0.142	0.048	-0.153	0.159	0.132	-0.053	-0.304	0.123	0.084	-0.271	0.016	0.078
Gibbsite	0.386	-0.035	-0.305	0.245	-0.11	-0.6	-0.019	-0.264	0.584	-0.633	-0.4	0.596	-0.535	-0.153
soil humidity	0.395	0.054	-0.325	0.356	-0.116	-0.376	-0.01	-0.205	0.378	-0.333	0.128	0.07	-0.094	0.143
nH	-0.384	0.074	-0.118	-0.278	0.458	0 505	-0.364	-0.043	-0.081	0.316	0.176	-0.097	0.29	0.123
CEC.	0.175	0.074	0.262	0.250	0.430	0.303	0.022	0.242	0.127	0.310	0.170	0.211	0.106	0.140
	-0.175	0.030	0.302	-0.333	0.447	0.203	0.033	0.342	-0.137	0.273	-0.085	-0.311	0.190	-0.145
OX AI	0.076	-0.036	-0.260	0.198	-0.191	-0.307	0.008	-0.3	-0.042	-0.348	-0.022	0.018	-0.296	-0.03
ox Fe	0.007	-0.1/9	-0.285	0.129	-0.187	-0.043	-0.379	-0.308	0.14	-0.219	-0.094	0.184	-0.265	0.085
tot C	0.560	-0.119	-0.125	0.195	-0.286	-0.652	-0.113	0.116	0.412	-0.742	-0.352	0.082	-0.36	-0.158
tot N	0.485	-0.057	-0.217	0.259	-0.304	-0.519	-0.081	0.014	0.375	-0.611	-0.152	0.075	-0.265	-0.029
tot P	0.529	-0.026	-0.120	0.439	-0.152	-0.377	0.079	-0.098	0.294	-0.441	-0.24	0.204	-0.263	-0.088
soil C:N	0.319	-0.206	0.196	-0.142	-0.123	-0.6	-0.119	0.325	0.198	-0.639	-0.551	0.043	-0.32	-0.372
Nmin	-0.013	0.251	-0.081	0.062	0.028	-0.114	0.546	-0.086	-0.062	0.048	0.267	-0.105	0.095	0.01
avP	0.062	0.178	0.680	-0.213	0.275	-0.211	0 121	0 777	0.129	-0.098	-0.285	-0 181	0 321	-0.433
MBD	0.002	-0.095	-0.128	-0.041	-0.09	-0.492	-0.117	0.282	0.436	-0 564	-0.27	0.061	-0.22	-0.152
NAMAD.	0.475	0.000	0.120	0.041	0.001	-0.432	-0.117	0.202	0.417	0.004	0.105	0.001	-0.22	-0.152
IVIIVIB	0.415	-0.026	-0.152	0.261	-0.091	-0.427	-0.148	0.101	0.417	-0.376	-0.165	0.156	-0.141	0.058
DNA165	0.242	0.069	-0.102	0.35	0.155	-0.265	-0.052	0.006	0.264	-0.159	-0.004	0.046	0.003	0.183
DNA185	0.164	0.057	-0.235	0.302	0.1	-0.158	-0.055	-0.273	0.442	-0.083	0.098	0.374	-0.11	0.368
F:B	-0.007	-0.043	-0.212	-0.094	-0.103	0.065	-0.069	<u>-0.371</u>	0.244	-0.056	0.006	0.411	-0.256	0.266
OTU_B	-0.238	0.302	0.135	-0.08	0.6	0.357	0.397	0.012	0.042	0.6	0.418	0.116	0.515	0.016
Evenness_B	-0.320	0.260	-0.029	-0.019	0.339	0.39	0.401	-0.27	-0.186	0.572	0.479	0.117	0.301	0.139
OTU F	-0.090	0.182	-0.214	0.325	-0.027	0.084	0.422	-0.491	0.164	0.197	0.331	<u>0.</u> 408	-0.054	0.416
Evenness E	0.071	0.193	0.130	0.208	-0.016	-0.239	0.178	0.171	0.103	0.003	0.055	0.01	0.137	0.066
Proteobacteria	0.596	0.098	0.065	0.122	-0.049	-0.690	0.038	0.330	0.529	-0.676	-0.445	0.083	-0.271	-0.157
Planetomycotor	0.111	0.000	-0.589	0.122	-0.243	0.229	0.097	0.550	0.44	0.192	0.261	0.005	0.260	0.210
Planctomycetes	0.111	-0.090	-0.365	0.102	-0.343	-0.228	0.087	-0.58	0.44	-0.182	0.201	0.599	-0.209	0.219
Acidobacteria	0.549	-0.130	<u>-0.341</u>	0.447	-0.224	-0.500	-0.060	-0.191	0.359	-0.634	-0.307	0.105	-0.420	0.186
Unknown_B	-0.552	0.126	0.132	-0.188	0.162	0.698	0.025	-0.138	-0.592	0.711	0.479	-0.264	0.337	0.079
Actinobacteria	-0.241	0.161	0.540	-0.455	0.393	0.283	-0.008	0.629	-0.135	0.384	-0.079	-0.251	0.474	-0.411
Chloroflexi	-0.444	-0.243	-0.158	-0.204	-0.183	0.524	-0.188	-0.367	-0.561	0.355	0.262	-0.159	-0.035	0.137
Alphaproteobacteria	0.538	0.018	-0.169	0.093	-0.122	-0.699	0.155	0.155	0.611	-0.66	-0.39	0.28	-0.34	-0.1
Acidobacteria_Gp1	0.561	-0.034	-0.213	0.255	-0.119	-0.631	0.144	-0.005	0.225	-0.636	-0.331	-0.133	-0.334	0.049
Gammaproteobacteria	0.612	-0.160	-0.159	0.28	-0.253	-0.728	0.027	0.033	0.298	-0.808	-0.547	0.022	-0.52	-0.231
Deltaproteobacteria	0.005	0.320	0.312	-0.079	0.216	-0.114	-0.191	0.412	0.143	-0.052	-0.015	-0.116	0.223	0.252
Acidobacteria Gn?	0.368	-0.277	-0.399	0.548	-0.374	-0.43	-0.265	-0.375	0.435	-0 502	-0.264	0.476	-0.493	0.198
Returnetechesterie	0.300	0.424	0.355	0.162	0.354	-0.45	0.203	0.375	0.001	-0.302	0.204	0.212	0.397	0.150
Betaproteobacteria	0.294	0.424	0.751	-0.103	0.334	-0.073	-0.007	0.769	0.091	0.041	-0.090	-0.512	0.387	-0.507
Burkholderlaceae	1	-0.044	-0.152	0.220	-0.270	-0.523	0.190	-0.021	0.257	-0.543	-0.173	0.016	-0.335	-0.225
Comamonadaceae	-0.044	1	0.339	0.037	0.376	0.070	0.126	0.138	0.029	0.354	0.394	0.015	0.331	-0.004
Oxalobacteraceae	-0.152	0.339	1	-0.225	0.412	0.159	-0.043	0.770	-0.096	0.249	-0.121	-0.319	0.408	-0.256
Crenarchaeota	0.221	0.037	-0.226	1	-0.316	-0.231	0.156	-0.336	0.092	-0.107	-0.05	0.276	-0.261	0.195
Bacteroidetes	-0.271	0.376	0.413	-0.316	1	0.247	0.111	0.271	0.126	0.37	0.019	-0.025	0.485	-0.047
Acidobacteria_Gp4	-0.524	0.070	0.160	-0.231	0.247	1	-0.327	-0.067	-0.354	0.764	0.477	-0.076	0.508	0.146
Firmicutes	0.191	0.127	-0.044	0.156	0.111	-0.327	1	-0.176	0.082	-0.098	0.056	0.096	-0.085	-0.005
Verrucomicrobia	-0.021	0.139	0.771	-0.336	0.271	-0.067	-0.176	1	-0.072	0.023	-0.304	-0.468	0.409	-0.426
Unclassified Proteobacteria	0.258	0.030	-0.096	0.092	0.126	-0.354	0.082	-0.072	1	-0 314	-0.156	0.673	-0.091	-0.089
Armatimonadetes	-0.543	0.354	0.249	-0.107	0.37	0 764	-0.098	0.023	-0.314	1	0 597	-0 117	0.64	0.179
Germatimonadetes	-0.174	0.394	-0.122	-0.05	0.019	0.477	0.056	-0.304	-0.156	0 597	1	-0.019	0.557	0.211
Acidobactoria CaC	0.01/4	0.015	0.320	0.00	0.015	0.070	0.000	0.304	0.130	0.357	0.010	-0.015	0.357	0.00
Acidobacteria_opo	0.010	0.015	-0.320	0.270	-0.025	-0.070	0.090	-0.408	0.075	-0.11/	-0.019	1	-0.25	0.09
Acidobacteria_Gp/	-0.335	0.331	0.409	-0.261	0.485	0.508	-0.085	0.409	-0.091	U.64	0.557	-0.25	1	-0.144
Acidobacteria_Gp13	-0.225	-0.005	-0.256	0.195	-0.047	0.146	-0.005	-0.426	-0.089	0.179	0.211	0.09	-0.144	1
Acidobacteria_Gp5	0.053	-0.128	-0.244	0.309	-0.001	-0.157	0.008	-0.272	0.554	-0.17	-0.083	0.603	-0.14	0.126
Unclassified_Acidobacteria	0.248	-0.094	-0.262	0.413	0.05	-0.263	-0.186	-0.217	0.331	-0.274	-0.164	0.252	-0.258	0.136
Acidobacteria_Gp3	-0.038	0.118	-0.089	0.031	-0.212	0.183	0.067	-0.296	0.009	0.179	0.169	0.197	-0.142	0.351
Ascomycota	0.342	-0.172	0.129	-0.134	0.041	-0.131	-0.263	0.28	-0.095	-0.275	-0.21	-0.347	0.004	-0.329
Basidiomycota	-0.177	0.107	<u>-0.335</u>	0.169	-0.025	0.083	0.332	<u>-0.</u> 363	0.193	0.089	0.147	0.401	-0.149	0.353
Unknown F	-0.110	-0.052	0.321	-0.202	-0.139	-0.007	-0.379	0.343	0.008	-0.044	-0.061	-0.133	0.191	-0.136
Environmental E	-0.170	0.268	-0.075	0.187	0.146	0.164	0.426	-0.375	0.015	0.332	0.379	0.261	0.043	0.275
Unclassified F	-0.170	0.200	-0.075	0.107	-0.155	-0.000	-0.054	-0.575	0.013	-0.040	-0.017	0.201	-0.226	0.275
chuid assilieu_r	-0.131	0.004	0.372	0.272	-0.133	-0.005	-0.034	-0.340	0.012	-0.045	-0.017	0.425	-0.520	0.215
Criytridiomycota	-0.184	0.597	0.301	0.128	0.321	0.111	0.305	0.088	0.043	0.404	<u>U.367</u>	-0.01/	0.355	0.106
Giomeromycota	-0.206	0.253	0.432	-0.076	0.306	0.284	-0.131	0.234	-0.227	0.477	0.06	-0.209	0.177	0.058
Blastocladiomycota	0.185	-0.040	0.564	0.027	-0.042	0.023	-0.196	0.534	-0.094	-0.122	-0.249	-0.226	0.007	-0.106
Cryptomycota	-0.222	0.297	0.001	0.014	0.366	0.097	0.258	-0.291	0.149	0.199	0.222	0.381	-0.015	0.146
Neocallimastigomycota	-0.040	-0.114	-0.137	-0.115	-0.169	-0.101	0.209	0.13	-0.027	-0.061	-0.131	-0.046	-0.146	-0.066
d7 BR	0.685	-0.074	-0.085	0.121	-0.192	-0.652	0.023	0.238	0.498	-0.712	-0.402	0.069	-0.298	-0.289
d7_SM	0.174	0.252	0.224	0.084	0.000	-0.421	0.529	0.337	0.029	-0.067	0.034	-0.067	0.184	-0.335
d7_PF	0.223	0,020	-0.106	0.003	-0.146	-0 /172	-0.06	-0.094	0.651	-0 //6	-0.163	0.522	-0.266	0.131
d42 PP	0.619	0.016	0.130	0.01	0.022	0.975	0.022	0.034	0.001	0.501	-0.263	0.305	0.200	0.131
U42_DR	0.015	0.010	-0.019	0.01	-0.025	-0.564	-0.025	0.276	0.005	-0.591	-0.303	0.295	-0.2	-0.250
042_SM	-0.221	-0.1/3	0.219	-0.289	-0.093	0.1/3	-0.148	0.237	-0.262	0.085	-0.185	-0.137	0.01/	-0.346
d42 PE	-0.431	-0.304	-0.010	-0.105	-0.33	0.389	-0.271	-0.102	-0.595	0.171	-0.004	-0.344	-0.109	-0.041

Variables	Acidobacteria Gp5	Unclassified Acidobacteria	Acidobacteria Gp3	Ascomvcota	Basidiomvcota	Unknown F	nvironmental	Jnclassified	Ihvtridiomvco	lomeromycot	stocladiomy	cCryptomycota	allimastigom	d7 BR	d7 SM	d7 PE	d42 BR	d42 SM	d42 PE
altitude	0.355	0.344	-0.063	0.116	-0.077	0.154	-0.190	0.188	-0.147	-0.513	-0.132	-0.101	0.011	0.658	0.160	0.613	0.574	-0.331	-0.414
MAP	0.13	0.164	0.209	-0.142	0.408	-0.347	0.26	0.41	-0.057	-0.091	-0.089	0.229	0.175	-0.125	-0.617	-0.101	-0.279	-0.276	0.277
MAT	-0.351	-0.344	0.075	-0.224	0.138	-0.11	0.234	-0.089	0.127	0.494	0 104	0.136	-0.026	-0.718	-0.279	-0.534	-0.64	0.311	0.465
BD	-0.022	-0.478	-0.038	-0.143	-0.034	-0.002	0.091	-0.261	0.037	0.237	-0.107	-0.044	-0.021	-0.578	0.219	-0.401	-0.494	0.496	0.297
clay	0.236	0.447	0.095	0.258	0.001	-0.22	-0.058	0.106	0.01	-0.113	0.136	0.029	0.119	0 444	-0.229	0.168	0.295	-0.356	-0.072
silt	-0.096	-0.039	-0.133	-0.073	0.107	-0.153	-0.011	-0.006	0.048	-0.056	-0.185	-0.03	-0.078	-0.427	-0.151	-0.179	-0.383	-0.166	-0.043
sand	-0.223	-0.466	-0.062	-0.254	-0.03/	0.281	0.065	-0.111	-0.025	0.138	-0.09	-0.022	-0.104	-0.346	0.29	-0.125	-0.2	0.131	0.015
Kaolinite	-0.075	-0.976	0.002	0.254	-0.129	0.049	-0.115	-0.182	-0.114	0.199	0.033	-0.137	0.06	-0.106	0.066	-0.384	-0.166	0.158	0.05
Gibbsite	0.075	0.403	-0.001	0.113	-0.007	0.043	-0.068	0.102	-0.186	-0.35	-0.154	0.094	-0.13	0.100	-0.066	0.605	0.100	-0.268	-0.348
coil humidity	0.431	0.403	-0.001	0.113	-0.007	0.023	-0.008	0.451	-0.180	-0.35	-0.134	0.034	0.112	0.505	-0.000	0.003	0.01	-0.208	-0.348
soli numicity	0.007	0.035	-0.078	0.138	0.074	-0.232	-0.003	0.130	0.034	0.004	-0.017	-0.021	0.005	0.302	-0.090	0.292	0.405	-0.003	0.352
pn crc	-0.007	0.025	-0.071	0.14	0.105	-0.208	0.022	0.01	-0.045	0.094	-0.094	0.176	0.095	-0.147	-0.515	-0.302	-0.157	-0.140	0.105
	-0.143	-0.11	-0.074	0.029	0.122	-0.242	0.007	-0.198	0.022	0.132	0.237	0.008	0.495	-0.043	-0.225	-0.330	-0.113	0.065	0.164
OX AI	0.033	0.311	-0.067	-0.01	0.023	0.139	0.029	0.429	0.014	-0.279	-0.174	0.172	-0.124	0.154	-0.07	0.016	-0.041	-0.331	-0.029
ox Fe	-0.086	0.622	-0.031	0.091	-0.075	0.192	-0.197	0.594	-0.239	-0.198	-0.15	-0.079	0.057	0.057	-0.312	0.255	-0.004	-0.417	-0.023
tot C	0.1//	0.43	-0.076	0.296	-0.077	0.093	-0.347	-0.002	-0.264	-0.478	0.29	-0.293	0.175	0.843	-0.068	0.481	0.715	-0.324	-0.335
tot N	0.184	0.416	-0.038	0.175	0.076	-0.012	-0.216	-0.012	-0.174	-0.493	0.259	-0.244	0.24	0.775	-0.105	0.431	0.645	-0.381	-0.311
tot P	0.092	0.475	-0.109	0.149	-0.037	-0.041	-0.073	0.179	-0.001	-0.195	0.191	-0.085	-0.1	0.434	0.077	0.248	0.404	-0.289	-0.286
soil C:N	0.007	0.169	-0.131	0.398	-0.463	0.403	-0.488	0.015	-0.344	-0.164	0.162	-0.237	-0.17	0.445	0.151	0.337	0.428	0.055	-0.173
Nmin	-0.247	-0.121	0.04	-0.129	0.215	-0.317	0.356	0.049	0.266	-0.11	-0.148	0.092	0.319	-0.08	0.303	-0.179	-0.169	-0.208	-0.052
avP	-0.047	-0.259	-0.12	0.25	-0.317	0.247	-0.246	-0.473	0.087	0.172	0.534	-0.215	0.05	0.277	0.364	-0.026	0.359	0.294	-0.175
MBP	0.329	0.294	-0.077	0.302	-0.009	-0.096	-0.399	-0.221	-0.255	-0.267	0.317	-0.242	0.389	0.882	-0.057	0.394	0.839	-0.178	-0.394
MMB	0.366	0.511	0.043	0.16	0.037	-0.043	-0.244	0.033	-0.122	-0.147	0.247	-0.033	0.33	0.766	-0.129	0.403	0.706	<u>-0.399</u>	-0.443
DNA16S	0.308	0.585	0.031	0.216	-0.093	-0.058	-0.155	0.018	0.023	0.089	0.176	0.126	0.071	0.508	-0.118	0.161	0.466	<u>-0.406</u>	<u>-0.395</u>
DNA18S	0.638	<u>0.398</u>	0.391	-0.033	0.105	-0.005	-0.013	0.086	-0.031	0.108	-0.064	0.271	-0.057	0.316	-0.26	0.354	0.407	-0.277	-0.35
F:B	0.56	-0.215	0.498	-0.263	0.274	0.034	0.039	0.074	-0.169	-0.157	-0.244	0.053	-0.16	-0.116	-0.312	0.282	0.007	0.119	0.034
OTU_B	0.146	-0.162	0.123	-0.288	0.309	-0.314	0.327	-0.198	0.262	0.16	-0.275	0.337	0.138	<u>-0.322</u>	0.151	-0.163	-0.195	-0.074	-0.236
Evenness_B	0.177	-0.229	0.158	-0.279	0.291	-0.363	0.369	0.085	0.238	0.213	-0.36	0.487	0.15	-0.495	0.089	-0.235	-0.454	-0.128	-0.05
OTU_F	0.26	-0.171	0.234	-0.63	0.609	-0.33	0.879	0.398	0.602	-0.008	-0.228	0.575	0.044	-0.231	0.11	0.146	-0.181	-0.192	-0.052
Evenness F	0.045	0.018	0.088	-0.355	0.091	0.28	0.248	0.17	0.46	0.015	0.069	0.239	0.083	0.218	0.365	0.131	0.235	-0.156	-0.268
Proteobacteria	0.217	0.386	-0.187	0.210	-0.050	0.064	-0.275	-0.113	-0.001	-0.297	0.241	-0.151	0.101	0.847	0.217	0.600	0.823	-0.337	-0.600
Planctomycetes	0.622	0.156	0.418	-0.26	0.347	-0.038	0.109	0.369	-0.151	-0.4	-0.496	0.18	0.145	0.165	-0.111	0.543	0.19	-0.261	-0.187
Acidobacteria	0.261	0.667	-0.083	0.306	-0.077	-0.075	-0.225	0.190	-0.180	-0.373	0.091	-0.205	-0.068	0.656	-0.157	0.404	0.513	-0.560	-0.415
Unknown B	-0.422	-0.409	0.142	-0.174	0.009	-0.14	0.37	0.079	0.22	0.422	-0.086	0.28	0.035	-0.748	-0.143	-0.676	-0.76	0.248	0.542
Actinobacteria	-0.35	-0.485	-0.109	-0.097	-0.087	0.241	-0.055	-0.472	0.137	0.23	0.021	-0.123	-0.102	-0.295	0.352	-0.254	-0.129	0.487	0.067
Chloroflexi	-0.308	-0.308	0.054	-0.028	-0.092	-0.051	0.134	0.199	-0 194	0.274	-0.03	0.055	-0.062	-0.67	-0.38	-0.472	-0.686	0.415	0.734
Alphaproteobacteria	0.333	0.24	-0.07	-0.002	0.167	0.016	-0.159	-0.129	-0.083	-0.366	0.013	-0.103	0.162	0.775	0.279	0.694	0.818	-0.192	-0.553
Acidobacteria Go1	0.063	0.24	-0.152	0.378	-0.153	-0.08	-0.282	-0.037	-0.132	-0.29	0.013	-0.2	0.021	0.693	0.083	0.004	0.52	-0.456	-0.333
Gammaprotophactoria	0.005	0.471	0.216	0.399	0.155	0.00	-0.38	0.009	0.152	-0.339	0.060	0.195	0.071	0.055	0.005	0.200	0.52	0.208	0.210
Deltaprote obacteria	0.013	0.477	-0.210	0.039	-0.237	0.122	0.164	0.038	-0.203	0.005	0.009	-0.185	-0.071	0.202	0.149	0.405	0.347	-0.238	-0.315
Asidahastaria Ca2	-0.012	0.268	-0.047	0.028	0.059	0.064	-0.164	-0.102	0.225	-0.005	0.439	-0.04	0.256	0.353	-0.041	0.256	0.421	-0.353	-0.446
Acidobacteria_Gpz	0.439	0.643	0.062	0.049	0.055	0.053	-0.143	0.45	-0.275	-0.373	0.027	-0.164	-0.136	0.411	-0.302	0.441	0.306	-0.372	-0.215
Betaproteobacteria	-0.168	-0.002	-0.174	0.233	-0.217	0.101	-0.223	-0.469	0.274	0.172	0.551	-0.17	0.126	0.388	0.259	-0.024	0.401	-0.077	-0.372
Burkholderlaceae	0.053	0.248	-0.038	0.342	-0.177	-0.109	-0.169	-0.150	-0.184	-0.206	0.185	-0.222	-0.039	0.684	0.174	0.233	0.619	-0.220	-0.430
Comamonadaceae	-0.128	-0.094	0.118	-0.172	0.10/	-0.051	0.268	0.004	0.596	0.253	-0.039	0.297	-0.113	-0.073	0.252	0.020	0.016	-0.173	-0.304
Oxalobacteraceae	-0.243	-0.262	-0.089	0.128	-0.334	0.320	-0.075	-0.372	0.360	0.431	0.564	0.000	-0.137	-0.085	0.224	-0.196	-0.018	0.218	-0.010
Crenarchaeota	0.309	0.413	0.031	-0.134	0.169	-0.202	0.187	0.272	0.128	-0.076	0.027	0.014	-0.115	0.121	0.084	0.093	0.01	-0.289	-0.105
Bacteroidetes	-0.001	0.05	-0.212	0.041	-0.025	-0.139	0.146	-0.155	0.321	0.306	-0.042	0.366	-0.169	-0.192	0.000	-0.146	-0.023	-0.093	-0.33
Acidobacteria_Gp4	-0.157	-0.263	0.183	-0.131	0.083	-0.007	0.164	-0.083	0.111	0.284	0.023	0.097	-0.101	-0.652	-0.421	-0.473	-0.584	0.173	0.389
Firmicutes	0.008	-0.186	0.067	-0.263	0.332	-0.379	0.426	-0.054	0.305	-0.131	-0.196	0.258	0.209	0.023	0.529	-0.06	-0.023	-0.148	-0.271
Verrucomicrobia	-0.272	-0.217	-0.296	0.28	-0.363	0.343	-0.375	-0.546	0.088	0.234	0.534	-0.291	0.13	0.238	0.337	-0.094	0.278	0.237	-0.102
Unclassified_Proteobacteria	0.554	0.331	0.009	-0.095	0.193	0.008	0.015	0.012	0.043	-0.227	-0.094	0.149	-0.027	0.498	0.029	0.661	0.663	-0.262	-0.595
Armatimonadetes	-0.17	-0.274	0.179	-0.275	0.089	-0.044	0.332	-0.049	0.404	0.477	-0.122	0.199	-0.061	-0.712	-0.067	-0.446	-0.591	0.085	0.171
Gemmatimonadetes	-0.083	-0.164	0.169	-0.21	0.147	-0.061	0.379	-0.017	0.367	0.06	-0.249	0.222	-0.131	-0.402	0.034	-0.163	-0.363	-0.185	-0.004
Acidobacteria_Gp6	0.603	0.252	0.197	-0.347	0.401	-0.133	0.261	0.429	-0.017	-0.209	-0.226	0.381	-0.046	0.069	-0.067	0.533	0.295	-0.137	-0.344
Acidobacteria_Gp7	-0.14	-0.258	-0.142	0.004	-0.149	0.191	0.043	-0.326	0.355	0.177	0.007	-0.015	-0.146	-0.298	0.184	-0.266	-0.2	0.017	-0.109
Acidobacteria_Gp13	0.126	0.136	0.351	-0.329	0.353	-0.136	0.275	0.219	0.106	0.058	-0.106	0.146	-0.066	-0.289	<u>-0.335</u>	0.131	-0.238	-0.346	-0.041
Acidobacteria_Gp5	1	0.185	0.128	-0.086	0.182	-0.034	0.016	0.133	-0.048	-0.104	-0.136	0.275	-0.127	0.272	-0.15	0.398	0.331	-0.165	-0.317
Unclassified_Acidobacteria	0.185	1	-0.247	0.213	-0.081	-0.074	-0.282	0.282	-0.186	-0.163	-0.006	-0.072	-0.042	0.363	-0.161	0.283	0.333	-0.574	-0.464
Acidobacteria_Gp3	0.128	-0.247	1	-0.381	0.34	0.128	0.15	0.151	0.018	-0.056	-0.161	0.028	0.124	-0.107	-0.263	-0.001	-0.104	0.06	0.182
Ascomycota	-0.086	0.213	-0.381	1	-0.784	0.162	-0.603	-0.274	-0.434	0.209	0.314	-0.373	-0.224	0.334	-0.114	-0.175	0.221	-0.054	-0.035
Basidiomycota	0.182	-0.081	0.34	-0.784	1	-0.473	0.551	0.193	0.268	-0.396	-0.244	0.297	0.443	-0.087	-0.033	0.173	-0.056	-0.179	-0.072
Unknown_F	-0.034	-0.074	0.128	0.162	-0.473	1	-0.453	0.01	-0.133	0.136	0.101	-0.217	-0.329	0.017	0.072	0.139	0.057	0.128	0.034
Environmental F	0.016	-0.282	0.15	-0.603	0.551	-0.453	1	0.338	0.664	0.037	-0.227	0.603	0.015	-0.393	0.114	-0.059	-0.346	-0.1	0.073
Unclassified F	0.133	0.282	0.151	-0.274	0.193	0.01	0.338	1	0.099	-0.184	-0.356	0.333	0.074	-0.2	-0.164	0.199	-0.253	-0.339	0.089
Chytridiomycota	-0,048	-0,186	0,018	-0.434	0,268	-0.133	0,664	0,099	1	0,22	0,019	0,505	-0,081	-0,232	0.336	-0,053	-0,209	-0,202	-0.16
Glomeromycota	-0.104	-0.163	-0.056	0.209	-0.396	0.136	0.037	-0.184	0.22	1	0.221	0.317	-0.258	-0.318	0.027	-0.302	-0.167	0.303	0.118
Blastocladiomycota	-0 136	-0.006	-0.161	0.205	-0.244	0 101	-0 222	-0.356	0.010	0 2 2 1	1	-0 231	0.062	0.285	-0.027	-0 117	0.265	0 122	0.042
Chyptomycota	0.130	-0.072	0.101	-0 372	0.244	-0.217	0.227	0 333	0.015	0.221	-0.224	1	-0.1	-0.253	0.055	0.117	-0.105	-0.102	-0.142
Neocallimastigomucota	-0.127	-0.0/2	0.020	-0.224	0.297	-0.217	0.005	0.074	-0.001	-0.250	0.062	_01	-0.1	0.252	0.11	0.105	0.105	-0.102	0.142
d7 pp	-0.12/	0.042	0.124	-0.224	0.097	-0.329	-0.012	0.074	-0.001	-0.230	0.002	-0.1	0.224	1	0.047	0.02	0.115	-0.095	10.047
u/_DR	0.272	0.161	-0.107	0.334	-0.087	0.017	-0.393	-0.2	-0.232	-0.318	0.285	-0.252	0.224	1	0.068	0.140	0.882	-0.257	X0482
u/_SIVI	-0.15	-0.161	-0.263	-0.114	-0.033	0.072	0.114	-0.164	0.550	0.027	-0.093	0.11	0.047	0.068	1	0.149	0.16/	0.057	-0.359
0/_PE	0.398	0.283	-0.001	-0.175	0.173	0.139	-0.059	0.199	-0.053	-0.302	-0.117	0.165	0.02	0.3/8	0.149	1	0.548	-0.262	-0.469
042_BR	0.331	0.333	-0.104	0.221	-0.056	0.057	-0.346	-0.253	-0.209	-0.167	0.265	-0.105	0.115	0.882	0.167	0.548	1	-0.118	-0.634
042_SM	-0.165	-0.574	0.06	-0.054	-0.179	0.128	-0.1	-0.339	-0.202	0.303	0.123	-0.102	-0.093	-0.257	0.057	-0.262	-0.118	1	0.604
042 PE	-0.317	-0.464	0.182	-0.035	-0.072	0.034	0.073	0.089	-0.16	0.118	0.042	-0.142	0.047	-0.482	-0.359	-0.469	-0.634	0.604	1

The ISME Journal (2017), 1–12 © 2017 International Society for Microbial Ecology All rights reserved 1751-7362/17 www.nature.com/ismei

## ORIGINAL ARTICLE

# Soil microbial diversity drives the priming effect along climate gradients: a case study in Madagascar

Kanto Razanamalala<sup>1</sup>, Tantely Razafimbelo<sup>1</sup>, Pierre-Alain Maron<sup>2</sup>, Lionel Ranjard<sup>2</sup>, Nicolas Chemidlin<sup>2</sup>, Mélanie Lelièvre<sup>3</sup>, Samuel Dequiedt<sup>3</sup>, Volaniaina H Ramaroson<sup>1</sup>, Claire Marsden<sup>4</sup>, Thierry Becquer<sup>5</sup>, Jean Trap<sup>5.6</sup>, Eric Blanchart<sup>5.6</sup> and Laetitia Bernard<sup>5.6</sup> <sup>1</sup>Laboratoire des Radio-Isotopes, Antananarivo, Madagascar; <sup>2</sup>INRA, UMR1347 Agroécologie, Dijon, France; <sup>3</sup>INRA, Plateforme GenoSol, UMR1347 Agroécologie, Dijon, France; <sup>4</sup>Supagro, UMR 210 Eco&Sols, Montpellier Cedex 1, France; <sup>5</sup>IRD, UMR 210 Eco&Sols, Montpellier Cedex 1, France and <sup>6</sup>IRD, UMR 210 Eco&Sols, Laboratoire des Radio-Isotopes, Antananarivo, Madagascar

The priming effect in soil is proposed to be generated by two distinct mechanisms: 'stoichiometric decomposition' and/or 'nutrient mining' theories. Each mechanism has its own dynamics, involves its own microbial actors, and targets different soil organic matter (SOM) pools. The present study aims to evaluate how climatic parameters drive the intensity of each priming effect generation mechanism via the modification of soil microbial and physicochemical properties. Soils were sampled in the center of Madagascar, along climatic gradients designed to distinguish temperature from rainfall effects. Abiotic and biotic soil descriptors were characterized including bacterial and fungal phylogenetic composition. Potential organic matter mineralization and PE were assessed 7 and 42 days after the beginning of incubation with <sup>13</sup>C-enriched wheat straw. Both priming mechanisms were mainly driven by the mean annual temperature but in opposite directions. The priming effect generated by stoichiometric decomposition was fostered under colder climates, because of soil enrichment in less developed organic matter, as well as in fast-growing populations. Conversely, the priming effect generated by nutrient mining was enhanced under warmer climates, probably because of the lack of competition between slow-growing populations mining SOM and fast-growing populations for the energy-rich residue entering the soil. Our study leads to hypotheses about the consequences of climate change on both PE generation mechanisms and associated consequences on soil carbon sequestration.

The ISME Journal advance online publication, 17 October 2017; doi:10.1038/ismej.2017.178

### Introduction

Priming effect is an increase in soil organic matter mineralization by microorganisms following fresh organic matter (FOM) input (Bingeman et al., 1953; Kuzyakov et al., 2000). After more than two decades of increasing research effort, PE-generating mechanisms, determinants and actors still need to be elucidated (Fontaine et al., 2003; Bernard et al., 2007, 2009, 2012; Pascault et al., 2013; Chen et al., 2014). Based on a literature review, Fontaine et al. (2003) proposed that PE can be generated by two different mechanisms: (1) indirectly via collateral damage exerted on soil organic matter (SOM) by extracellular enzymes released by FOM feeders, and (2) directly via the co-metabolism of energy-rich FOM catabolites by SOM feeders who mine SOM for nutrients. Recently Chen et al. (2014), used of the denomination 'stoichiometric

decomposition theory' and 'nutrient mining theory' for each mechanism respectively. These authors showed that the first process is favored by high nitrogen concentration while the second takes place in case of nitrogen depletion. Therefore, when fresh carbon inputs are not accompanied by nutrient inputs, PE should first be generated by stoichiometric decomposition, followed by nutrient mining after exhaustion of available nutrients in the soil solution. Other authors have shown that during PE generation, early PE corresponded to the mineralization of young, labile SOM by fast-growing microbes whereas late PE targeted old SOM and involved slow-growing populations (Blagodatskaya et al., 2014; Derrien et al., 2014). As a consequence, PE generated by stoichiometric decomposition should result from the activity of faster-growing microbes than PE generated by nutrient mining (Fontaine et al., 2003; Chen et al., 2014). Using the coupling of isotopic and molecular approaches, a small number of studies have identified phylogenetic groups involved in the mineralization of wheat residues and potentially involved in the different PE processes at different decomposition stages (Bernard

Correspondence: L Bernard, UMR 210 Eco&Sols, 2 place Viala Bt12, Montpellier Cedex 1, F-34060, France. E-mail: laetitia.bernard@ird.fr

Received 10 May 2017; revised 7 September 2017; accepted 14 September 2017

2

et al., 2007; Pascault et al., 2013). However, except for the soil nitrogen status, so far no other determinant of

The PE has been suspected to increase SOM mineralization in the context of global warming via the potential increase in labile carbon (C) inputs by plants to the soil in response to  $CO_2$  elevation (Heimann and Reichstein, 2008). However, it is not known whether temperature elevation (or rainfall variation) will be able to drive PE through the selection of different microbial guilds and/or the modification of the metabolism of the populations. This question is crucial for soil carbon sequestration, because if PE generated by nutrient mining leads to stable SOM depletion, PE generated by stoichiometric decomposition can be considered as a stimulation of the decomposition of young SOM and therefore a stimulation of the humification route.

The objective of this study was to determine how climatic parameters drive the capacity of microbial communities to mineralize organic matters and generate PE, through one or another previously described mechanism, in Ferralsols across the centre of Madagascar. The rapid climate changes likely to occur in the tropics (Neelin et al., 2006), and the necessity for soils to sequester carbon and recycle nutrients from SOM for plant growth justify the need to deepen the understanding of the drivers and microbes involved in the generation of PE in the tropics. Madagascar is a highly relevant region to study these aspects due to the existence of crossed gradients of temperature and rainfall on the same soils (Ferralsols which account for 750 million ha of world-wide tropical areas and which are strongly nutrient-depleted) and with the same vegetation type (natural savannas locally called 'Bozaka'). Climatic gradients are useful to project the long-term response of microbial communities and C turnover under a situation of increasing temperature or rainfall, that are particularly difficult to set up in developing countries. Soil samples were collected under natural herbaceous savannas along several gradients allowing to separate the effects of mean annual temperature (MAT) and mean annual precipitation (MAP). Soils were first characterized on the basis of the most important biotic and abiotic descriptors: microbial biomass, diversity and composition, soil texture, mineralogy, pH, water content, cationic exchange capacity, bulk density, total C, N, P contents, and available N and P contents. They were further incubated for 42 days to assess their capacity to mineralize wheat straw and SOM and to generate PE through both previously described mechanisms.

#### Materials and methods

Experimental site and soil sampling This study was carried out in the central part of Madagascar. Hillsides are dominated by Ferralsols according to the FAO classification and are subjected to a hot rainy season from November to April and a



Figure 1 Map of the study region with isohyets. (a: average annual temperature; b: average annual precipitation) and locations of the 40 sampling sites. Climatic data were obtained from the WORLDCLIM database (Hijmans et al., 2005).

The ISME Journal

PE-generating processes is known.

cold dry season from May to October (Figure 1). In May 2014, soil samples from 41 plots were collected under similar vegetation (natural herbaceous savannas dominated by the grass *Aristida* sp., Poaceae). Plots were located along three national roads (Figure 1—RN4, RN34 and RN7), allowing effects of MAT and MAP to be distinguished.

The mean annual temperature and precipitation of the three climatic gradients ranged from 18.6 to 25.5 °C and from 1359 to 1508 mm for RN34, from 17.7 to 26.8 °C and from 1327 to 1817 mm for RN4, and from 16.4 to 22 °C and from 779 to 1491 mm for RN7. The mean annual temperature and rainfall data were extracted from the WORLDCLIM database (Hijmans et al., 2005), obtained from 1950 to 2000, on the basis of the geographic coordinates of each sampling point. Unfortunately, no data were available at this scale for the following 14 years. Climate studies in Madagascar indicate that between 1961 and 2005, in the Highlands of Madagascar, MAT increased by 0.02 °C per year while MAP slightly decreased; this tendency is expected to increase during the next decades (Randriamarolaza, Meteo Madagascar, unpublished). In each plot, six soil cores, 0-10 cm depth and 1 m apart, were sampled using a metallic cylinder. One core was used to measure soil bulk density and other physicochemical parameters. The remaining 5 soil cores were pooled, sieved at 2 mm, and coarse plant debris were removed. Composite samples were maintained at 4 °C for no >1 week, prior to further fresh soil incubations and analyses.

#### Soil characterization

Different soil parameters, that is, amorphous aluminum and iron oxide contents and soil pH-H<sub>2</sub>O in the 0-10 cm horizon were collected from the Madagascar soil database. All the other parameters were measured after our sampling in May 2014. Soil bulk density and water content were calculated by weighing fresh and oven-dried bulk soil cores. Particle size distribution was determined by the Robinson pipette method (Pansu and Gautheyrou, 2007). The effective cation exchange capacity (CEC) was determined by suspending soil in cobaltihexamine chloride solution (100 mg l-1; 1:10 ratio) at soil pH and measured by flame spectrophotometry (Ciesielski et al., 1997). Total carbon (C) and nitrogen (N) contents were evaluated by dry combustion in a CHN analyzer (PerkinElmer Inc., Waltham. MA, USA).

Soil mineral contents (that is, kaolinite and gibbsite) were estimated by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS), using the model developed by Ramaroson *et al.* (2017).

The nitrate and ammonium  $(NO_3 \text{ and } NH_4)$  contents, obtained after KCl extraction, were determined by colorimetry according to the Berthelot reaction  $(NH_4)$  and the Griess reaction  $(NO_3)$  (Mulvaney, 1986) using an automated continuous

#### Priming effect and climate gradients K Razanamalala et al

flow analyser San<sup>++</sup> (Skalar analytique, France). The total P content was determined using perchloric acid attack (Jackson, 1958). The available phosphorus (av P) content and microbial biomass P (MBP) were measured using anion exchange resin after a fumigation-extraction method (Kouno *et al.*, 1995) adapted from Amer *et al.* (1955).

#### Molecular analyses of soil bacterial and fungal communities

After field sampling, 50 g subsamples were maintained at 4 °C, transported to France (Genosol platform, Dijon) and lyophilized for further molecular analyses. Microbial DNA was extracted from 2 g of lyophilized soil subsamples using the procedure described in (Plassart *et al.*, 2012). Quantification of DNA extracted from soil was used to estimate the 'microbial molecular biomass' (MMB) in each sample, as it corresponds to the amount of DNA extracted from 1 g of soil (Marstorp et al., 2000; Widmer et al., 2006; Dequiedt et al., 2011). Quantitative real-time PCR was performed on extracted DNA to quantify 16 S and 18 S rDNA gene sequences (Lienhard *et al.*, 2012; Plassart *et al.*, 2012), which led to the estimation of the fungal to bacterial ratio (F:B). For microbial diversity and composition analyses, banks of 16 S and 18 S ribosomal sequences were prepared prior to pyrosequencing analyses as described in Maron *et al.* (2011). Pyrosequencing was carried out on a GS FLX Titanium (Roche 454 Sequencing System). Biocomputering analysis of the sequences was performed using the GnS-PIPE (Terrat et al., 2012), as described in detail in Tardy et al. (2015). In order to compare the data sets efficiently and avoid biased community comparisons, the sample reads were reduced by random selection closed to the lowest data sets (3000 reads for 16 Sand 18 S-rRNA gene sequences respectively for each soil sample). The retained high-quality reads were used for taxonomy-based analysis using similarity approaches and dedicated reference databases from SILVA. Richness and diversity indices (number of OTUs, Evenness index) were determined at a dissimilarity threshold of 5%.

DNA sequences were deposited in the European Nucleotide Archive, under the study accession number PRJEB19651.

Soil microcosm set-up and priming effect assessment To assess the potential capacity of microbial communities to mineralize soil and fresh organic matter at a similar temperature of 27 °C (that is, regular incubation temperature for tropical soil—Bernard *et al.*, 2012), fresh composite soil samples were used to fill 2 series of 150-ml plasma flasks with 10 g of equivalent dry soil. The soil water content was adjusted to 70% of the saturation threshold using sterile deionized water. Both series were preincubated for 7 days in the dark. Then, one of the

#### Priming effect and climate gradients K Razanamalala et al

microcosm series was amended with 7% <sup>13</sup>C-labeled wheat straw powder (0.004 g straw per gram of dry weight soil) characterized by a C:N:P ratio of 108:4:1; the second series was not amended.

The microcosms of both series were then incubated (open, that is, unsealed) for 42 days. The soil water content was controlled throughout the incubation and adjusted with sterile deionized water when needed to prevent variation in soil moisture. Measurements of  $CO_2$  emissions (total  $CO_2$  and  $^{13}C-CO_2$ ) were performed on the 7th and 42nd day of the incubation, to correspond to 'early' and 'late' steps of FOM mineralization and PE. Prior to gas sampling, the microcosms were flushed with air to renew the atmosphere and were hermetically sealed for 3 days before measurements were conducted.

## Total CO<sub>2</sub> and <sup>13</sup>C-CO<sub>2</sub> measurements

The total atmospheric  $CO_2$  concentration was measured in all microcosms using a micro-CPG (CP-4900, Varian, Middelburg, The Netherlands). A 5-ml volume of the gaseous phase, of the straw-amended microcosms only, was sampled in Exatainer evacuated tubes (LABCO limited, UK) for further determination of carbon isotopic abundances using IRMS as described in Bernard *et al.* (2012).

PE was calculated as follows:  $PE = total measured CO_2$  of the straw-amended microcosm—straw-

derived CO<sub>2</sub> (calculated from the <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> atomic percentage, SM for straw mineralization)—total CO<sub>2</sub> measured in the non-amended microcosm (BR for basal respiration).

#### Statistics

Pearson correlations between all variables were calculated using XLSTAT software (Addinsoft, Paris, France). Significance of correlations was tested by the Bartlett test. All variables correlating to at least one of the carbon mineralization activities (BR; SM; PE), positively or negatively, at 7 or 42 days, and at a signification threshold of 1%, were retained to build up a principal component analysis (PCA).

### Results

Raw data obtained on each sampling plot from the analysis of all physicochemical and microbial parameters are presented in Supplementary Data set 1, with the principal descriptive statistics. The complete Pearson correlation matrix generated from Supplementary Data set 1 is presented in Supplementary Data set 2, while the PCA built on variables significantly (*P*-values < 0.01) correlated to basal respiration, straw mineralization or PE is shown in Figure 2.



Figure 2 Biplot representation of the Principal Component Analysis (PCA) performed on the 40 biotic and abiotic variables measured on the 40 soils sampled. The correlation circle of variables was superimposed to the PCA plot. Triangles represent sampling plots; dashed gray lines represent soil abiotic variables; dashed black lines represent climatic variables; plain black circles represent biotic variables. Plain black lines represent carbon mineralization activities. Acido, Acidobacteria; avP, available phosphorus; B, Bacteria; tot, total; BD, bulk density; BR, basal respiration; MAP, mean annual precipitation; MAT, mean annual temperature; MBP, microbial biomass phosphorus; MMB, microbial molecular biomass; SM, straw mineralization.

The ISME Journal

#### 4

#### Soil physicochemical properties

Soils were sampled at 60 to 1600 m a.s.l. and were mainly sandy clay loam or clay textured soils. Mean metal oxide contents s were  $1.3 \text{ mg g}^{-1}$  soil for aluminum and  $1.6 \text{ mg g}^{-1}$  soil for iron. Mean soil carbon content was about 2% with a C:N ratio of 16, mean mineral nitrogen content was 6 mg kg-1 soil and mean available phosphorus was 0.6 mg kg-1. Mean bulk density was 1.3 g cm<sup>-3</sup>, mean pH 5.5 and mean CEC 2.7 cmol kg<sup>-1</sup> of soil. Correlations between soil, site and climate variables are described in Supplementary Data set 2. Higher altitudes were characterized by higher clay content, especially of gibbsite type, higher soil C and N contents and a higher C:N ratio. By contrast, bulk density, pH and CEC were lower at these altitudes compared to lower altitudes-and warmer climates, as altitude was strongly negatively correlated to mean annual temperature (MAT). Some variables were correlated to mean annual precipitations (MAP), either positively, that is, clay content, pH and iron oxides, or negatively: sand content, soil C:N and available P. The first axis of the PCA (Figure 2) represented more than 38% of the total variance and was driven by the MAT, while the second axis accounted for only 14% of the total variance and was mainly driven by the MAP.

# Abundance and diversity of bacterial and fungal communities

The microbial communities from savanna Malagasy Ferralsols showed an F:B ratio ranging from 0.02 to 0.21 (Supplementary Data set 1). The main bacterial phyla (>10% of total sequences each) were Proteobacteria, Planctomycetes, Acidobacteria, Actinobacteria and Chloroflexi and major fungal phyla were Ascomycota and Basidiomycota. Únknown sequences represented 16 and 6% of total bacterial and fungal sequences, respectively. MAT was positively correlated to bacterial evenness, Unknown bacteria, Actinobacteria, Chloroflexi, Acidobacteria-GP4 and Armatimonadetes (Figure 2, Supplementary Data set 2). Oppositely, microbial molecular biomass (MMB-that is, DNA extraction yield), microbial biomass phosphorus (MBP—giving also an idea of the physiological status as P enters in DNA and RNA molecules), the bacterial density assessed by the number of 16 S ribosomal genes (DNA 16 S), Planctomycetes, all Proteobacteria subgroups and Acidobacteria GP-1,-2,-6, were negatively correlated to MAT. MAP was positively correlated only to Chloroflexi and negatively to Actinobacteria.

#### C mineralization

Considering all sampling sites and the whole incubation period, basal respiration ranged between 0.087 and 1.042  $\mu$ g C–CO<sub>2</sub> per g soil per h. Straw mineralization ranged between 0.242 and 2.634  $\mu$ g C–CO<sub>2</sub> per g soil per h. The PE

ranged between - 15 and 130% of basal respiration (Figure 3—Supplementary Data set 1).

Basal respiration did not change over time and was strongly and negatively linked to MAT (Table 1). Straw mineralization was strongly and negatively linked to MAP at 7 days and slightly positively correlated to MAT at 42 days. PE switched from being strongly and negatively correlated to MAT at 7 days, to being positively correlated to MAT at 42 days.

Basal respiration at both incubation dates was positively correlated to soil clay and gibbsite contents, C, N and P content and C:N ratio (Table 2 - Supplementary Data set 2). Straw mineralization at 7 days was positively related to soil available P content and negatively related to pH and iron oxide content. A positive correlation was visible with mineral N but was not significant even at a P-value <0.05 (Supplementary Data set 2). At 42 days, straw mineralization was positively driven by bulk density and sand percentage and negatively by initial soil humidity, iron oxide and C and N contents. PE at 7 days was positively correlated to soil Gibbsite enrichment, as well as to soil C and N content and C: N ratio, while the opposite was observed at 42 days with less significant relationships. Soil microbial parameters correlated to one or more C mineralization activities were MMB, MBP, bacterial density (DNA 16 S), bacterial evenness (Evenness\_B) and many bacterial Phyla or subphyla. Acidobacteria and Proteobacteria showed no strong relationship with respiration parameters at the phylum level, whereas certain lower phylogenetic levels did. Basal respiration was positively correlated to microbial and more precisely bacterial biomass, initial relative gene abundance of all Proteobacteria, and Subdivisions 1 and 2 of Acidobacteria (Gp1, Gp2). Straw mineralization was positively correlated to Firmicutes and Actinobacteria at 7 days and to Actinobacteria and Chloroflexi at 42 days. PE at 7 days was positively correlated to the same parameters as basal respiration and also to Planctomycetes and Acidobacteria-GP6. All these correlations were negative at 42 days and PE was then positively correlated to Unknown bacteria, Chloroflexi and Acidobacteria-GP4 only. In contrast to bacterial parameters, no fungal parameter was strongly correlated to any C mineralization activity.

#### Discussion

Stoichiometric decomposition vs nutrient mining Early PE intensity (7 days) was strongly and positively linked to basal respiration. Both also depended on microbial biomass, soil enrichment in organic matter and its quality informed by the soil C:N ratio. According to the literature, soil basal respiration is mainly related to the decomposition of a high-quality SOM pool (high C:N ratio; Murphy *et al.*, 2015). Our results suggest that PE generated at 7 days is a stimulation of this high-quality SOM



Figure 3 Cumulative histogram plot of (a) basal respiration, (b) straw mineralization and (c) PE at 7 and 42 days of incubation of the 41 sampled soils.

Table 1 Partial correlation matrix between climatic variables, and C mineralization activities registered at both incubation times (7 and 42 days)

Variables	7d_BR	$7d_{SM}$	7d_PE	42d_BR	42d_SM	42d_PE
MAP	-0.142	- 0.646	-0.071	- 0.290	-0.308	0.274
MAT	-0.704	-0.242	-0.537	-0.625	0.322	0.458
t7 BR	1	0.084	0.371	0.883	-0.242	-0.483
t7 SM	0.084	1	0.126	0.182	0.093	-0.357
t7 PE	0.371	0.126	1	0.538	-0.269	-0.465
t42 BR	0.883	0.182	0.538	1	-0.104	-0.635
t42 SM	-0.242	0.093	-0.269	-0.104	1	0.591
t42_PE	-0.483	-0.357	-0.465	-0.635	0.591	1

Abbreviations: BR, basal respiration; d, days; MAP, mean annual temperature; MAT, mean annual rainfall; PE, priming effect; SM, straw mineralization. Bold correlation coefficients represent P-values<0.01, and underlined correlation coefficients represent P-values<0.05.

### Priming effect and climate gradients

K Razanamalala et al

Variables	7d_BR	$7d_SM$	7d_PE	$42d_{BR}$	$42d\_SM$	42d_PE
BD	-0.527	0.277	-0.404	-0.444	0.513	0.272
Sand	-0.334	0.309	-0.133	-0.188	0.441	0.085
Clay	0.390	-0.294	0.182	0.247	-0.384	-0.054
Gibbsite	0.487	-0.101	0.607	0.490	-0.285	-0.337
Soil humidity	0.528	-0.149	0.300	0.377	-0.675	-0.372
pH	-0.143	-0.487	-0.304	-0.153	-0.138	0.103
ox Fe	0.050	-0.325	0.260	-0.012	-0.426	-0.019
Tot C	0.821	-0.101	0.486	0.694	-0.339	-0.326
Tot N	0.750	-0.142	0.436	0.620	-0.397	-0.300
Tot P	0.423	0.049	0.254	0.392	-0.300	-0.280
Soil C:N	0.447	0.158	0.332	0.430	0.062	-0.175
avP	0.281	0.425	-0.055	0.359	0.329	-0.175
MBP	0.876	- 0.066	0.396	0.831	-0.182	-0.391
MMB	0.757	-0.143	0.406	0.695	-0.405	-0.438
DNA16s	0.504	-0.122	0.163	0.461	-0.406	-0.393
Evenness_B	-0.456	0.150	-0.246	-0.412	-0.080	-0.059
Planctomycetes	0.173	-0.075	0.527	0.198	-0.236	-0.190
Unknown_B	-0.747	-0.142	-0.673	-0.758	0.243	0.542
Actinobacteria	-0.264	0.394	-0.263	-0.102	0.505	0.055
Chloroflexi	-0.672	-0.399	-0.457	- 0.688	0.385	0.732
Alpha-proteobacteria	0.762	0.245	0.696	0.804	-0.203	-0.547
Acidobacteria_Gp1	0.678	0.052	0.304	0.506	-0.465	-0.415
Gamma-proteobacteria	0.685	0.105	0.415	0.526	-0.314	-0.309
Delta-proteobacteria	0.396	-0.025	0.232	0.424	-0.378	-0.447
Burkholderiaceae	0.685	0.174	0.230	0.618	-0.217	-0.431
Acidobacteria_Gp2	0.391	-0.330	0.446	0.347	-0.389	-0.205
Acidobacteria_Gp4	-0.594	-0.309	-0.471	-0.527	0.210	0.356
Firmicutes	0.036	0.549	-0.072	- 0.008	-0.116	-0.273
Unclassified_Proteobacteria	0.498	0.034	0.657	0.662	-0.255	-0.595
Armatimonadetes	-0.708	-0.059	-0.447	-0.587	0.088	0.170
Acidobacteria_Gp6	0.080	-0.022	0.511	0.304	-0.108	-0.346
Unclassified_Acidobacteria	0.343	-0.198	0.291	0.312	-0.586	-0.449

Table 2 Partial correlation matrix between the biotic and abiotic variables, retained to build the PCA (Figure 2), and C mineralization activities registered at both incubation times (7 and 42 days)

Abbreviations: av, available; B, bacteria; BR, basal respiration; BD, bulk density; d, days; DNA 16 S, number of 16 S genes; Gibbsite, predicted by NIRS; MBP, microbial biomass phosphorus; MMB, molecular microbial biomass; ox Fe, iron oxide measured by oxalate extraction; SM, straw mineralization; Tot, total. Bold correlation coefficients represent *P*-values < 0.01, and underlined correlation coefficients represent *P*-values < 0.05.

mineralization probably due to the extra release of enzymes by wheat straw decomposers (Fontaine et al., 2003). In a study by Chen et al. (2014), mineral N positively drove the intensity of this process ('Stoichiometry theory'). In the present study, neither mineral N nor available P drove early PE. Available P and to a lesser extent mineral N positively drove the mineralization of wheat straw which induced PE, but PE intensity was not correlated to straw mineralization intensity. PE correlated strongly to soil gibbsite content. Oxide and hydroxide surfaces (mainly gibbsite in our soils) have been shown to sorb large amounts of dissolved organic matter (DOM), mainly through ligand exchange (Calvet et al., 2007). Therefore, in those Ferralsols, stoichiometric PE could have been limited by the low availability of organic nutrients associated to the mineral phase. During alkalinisation of soil solution following SM (Breemen *et al.*, 1983), the neutralization of positive charges in variable-charge soils (Becquer et al., 2001) could decrease the sorption of DOM (Hunt *et al.*, 2007), as well as those of organic and inorganic phosphate (Pavinato et al., 2010).

Late PE intensity (42 days) was inversely correlated to that generated at the earliest step, to basal respiration and to some soil parameters (SOM content, C:N and microbial biomass). Late PE appeared to be specific to a more stabilized SOM, and its intensity was positively linked to wheat straw mineralization. This suggests that late PE was generated by slow-growing microbes which cometabolized wheat straw and SOM, probably mining for nutrients (Fontaine *et al.*, 2003; Blagodatskaya *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2014).

### Microbial actors of C mineralization processes

The F:B ratio measured in this study was low compared to other biomes (Fierer *et al.*, 2009), indicating that the functioning of carbon-depleted Ferralsols under grass savannas is mainly driven by the bacterial- rather than by the fungal-energy channel of the soil food web (Wardle, 2005). Fungi tend to be better represented and more diverse in forested soils (Johnson and Wedin, 1997; Imberger and Chiu, 2001; Fierer *et al.*, 2009).

The present study highlighted the specificity of various bacterial phylogenetic groups for the decomposition and mineralization of different types of organic matter. Wheat straw, the most easily-

The ISME Journal

7

#### Priming effect and climate gradients K Razanamalala et al

8

available form of organic matter entering the soil, appeared to be first mineralized by Firmicutes and Actinobacteria. Our results are in line with other studies that used a DNA-SIP direct approach (Bernard et al., 2012; Pascault et al., 2013). The Firmicutes are among the fastest-growing bacteria with 12 copies of the RNA operon in their genome (Klappenbach et al., 2000), but are also endowed with strong catabolic capacities like phytate hydrolyzation (Jorquera et al., 2008). Actinobacteria are known to have enzymatic activities able to depolymerize FOM, such as cellulolytic activities (de Boer et al., 2005). The late step of wheat straw mineralization still appeared related to the initial relative density of Actinobacterial genes, while Chloroflexi could also be involved. Chloroflexi are reported to have a very slow growth rate (Davis et al., 2011) and to prevail in nutrient poor soils (Janssen, 2006; Will et al., 2010; Fierer et al., 2012). Moorhead and Sinsabaugh (2006) have functionally classified microorganisms on the basis of the lability vs recalcitrance status of their respective growth substrates, with (1) opportunists feeding on small labile molecules, (2) decomposers breaking down polymerized vegetal tissues and (3) miners devoted to the humified stabilizing SOM. According to this terminology, Firmicutes and Actinobacteria could be qualified as FOM decomposers, and Chloroflexi as SOM miners.

Basal respiration was positively correlated to the initial relative density of all Proteobacteria subgroups, Planctomycetes and Acidobacteria GP1, 2 and 6. Among these phylogenetic groups, β- and γ-Proteobacteria are overall known to be fast-growing copiotrophic organisms feeding on labile organic substrates, and can be qualified as opportunists (Klappenbach et al., 2000; Fierer et al., 2007; Eilers et al., 2010). γ-Proteobacteria were besides strongly linked to the soil gibbsite content, supposedly be associated to proteins and aminoacids (de Junet et al., 2013). Other subgroups of Proteobacteria, Planctomycetes and Acidobacteria GP1, 2 and 6 can be qualified as SOM decomposers as they are linked to the mineralization of high C:N SOM which characterizes poorly-evolved OM like decaying plant tissues. Most of them appeared to be responsible for the early PE. At the opposite, some phylogenetic groups appeared to be inversely correlated to basal respiration and therefore specific to a more stabilized SOM: Armatimonadetes, Acidobacteria-GP4, Chloroflexi and all the unknown Bacteria. Chloroflexi, Acidobacteria-GP4 and the unknown bacteria appeared to be positively linked to PE intensity at 42 days. Acidobacteria-GP4 sequences are known to correlate negatively with SOM and N (Foesel *et al.*, 2014) and their only culturable species was isolated from a semiarid savanna soil in Namibia (Foesel et al., 2013). This species is able to grow on protochatechuate, an aromatic substrate, and on other complex molecules such as chitin and cellulose. As Chloroflexi and Acidobacteria-GP4 were

The ISME Journal

also positively correlated to the late step of wheat straw mineralization, they can be considered as miners which use the energy of FOM to mine humified SOM for nutrients.

These results are based on correlations between CO2 release and gene relative densities in the pristine soil before incubation. We are aware that the addition of wheat straw probably initiated the growth of several populations, tending to change the biomass and the structure of the community during the incubation, which could have distorted our interpretation of results. However, we assume that such changes should be somewhat restricted. This postulate is based on several considerations. First, the wide majority of soil microbial populations are SOM miners and therefore slow-growing populations (Ranjard and Richaume, 2001). These populations are believed to contribute only to late decomposition of wheat straw (Blagodatskaya et al., 2014), when large increases in biomass are not expected. At this stage straw-derived energy is thought to be invested in cell maintenance and production of extracellular enzymes for SOM mining, rather than in proliferation. In addition, SOM miners, also described as K-strategists are characterized by low copy numbers of the ribosomal operon and thus do not have the cellular capacity to proliferate, even given high availability of labile substrates (Klappenbach et al., 2000). At the opposite, respective biomass of fast-growing microbial populations, like opportunists or some decomposers, should be severely controlled by protozoan grazers and nematodes in case of proliferation (Ekelund and Rønn, 1994; Griffiths, 1994; Bonkowski et al., 2000).

#### Climatic determinants of C mineralization activities

Climate may drive biomass, structure and composition of microbial communities indirectly by shaping some key soil properties, with consequences on C-cycling activities. MAT appeared to have a stronger impact on soil biotic and abiotic variables than MAP. MAP negatively controlled the early step of FOM mineralization mainly by its negative control on available P, and positive control on pH. As P is poorly available in Malagasy Ferralsols, it is not surprising that this nutrient could limit the first mineralization step of a carbon-rich compound. The negative correlation between available P content and MAP likely originates from the increasing P sorption by Fe and Al oxyhydroxides resulting from higher weathering rates and silica leaching (Schaefer et al., 2008). Also, the decomposition of fresh and complex organic matters is carried out by extracellular enzymes whose activities strongly depend positively or negatively on pH, especially in Malagasy Ferralsols (Kedi et al., 2013). And pH in highly weathered soil tends also to increase to values close to the zero-point charge of Fe and Al



Figure 4 Conceptual scheme of the driving mechanisms of mineralization adapted from Chen et al. (2014). MAP represents mean annual precipitation, and MAT represents mean annual temperature. The microbial compartment is divided into 3 functional groups (Opportunists, Decomposers, Miners) and filled with associated phylogenetic groups. Light gray arrows represent influence of abiotic parameters; plain red arrows represent regular C fluxes transiting by the microbial Opportunist and Decomposer funnels; plain blue arrows represent regular C fluxes transiting by the microbial Miner funnel; dashed arrows represent the priming effect generated by microbial stoichiometric decomposition (in red) and microbial nutrient mining (in blue).

oxides (between 6 and 7; Schaefer *et al.*, 2008). At the last incubation point, wheat straw mineralization was mainly controlled by soil texture, with higher mineralization rates in sandy soils as usually described in the literature (Saggar *et al.*, 1996; Frøseth and Bleken, 2015).

The negative control of MAT on basal respiration and early PE appeared to be linked to the amount and quality of SOM. Temperature is known to drive positively the turnover of organic matter (Davidson and Janssens, 2006), while negatively affecting grass productivity in African savannas (Gao et al., 2016). Therefore, considering that MAT reduces FOM input while promoting its decomposition rate, the reduction of the high-quality SOM pool in warmer regions seems coherent. This was accompanied by the reduction of the density and physiological status (MBP) of microbial communities, and by the the reduction in size of the opportunist and decomposer guilds. Conversely, late PE, thought to follow the nutrient mining theory, increased with MAT because of this high-quality SOM depletion leading to the predominance of slow-growing miners. With less competition from opportunists and decomposers, miners should have more access to FOM energy for nutrient mining (Fontaine et al., 2003). Basal respiration and PE (early and late), when expressed as the ratio of C-CO2 to total soil carbon or to microbial molecular biomass instead of to gram of soil, did all strongly and positively correlate to MAT (data not shown). Such a ratio of CO2 evolution to soil C or microbial biomass should be inversely

related to the microbial Carbon Use Efficiency (that is, CUE: Growth/uptake—Geyer *et al.*, 2016). And CUE has been shown to decrease with a change of microbial community composition from r to K strategist dominance (Blagodatskaya *et al.*, 2014). Therefore, the positive correlation we observed between relative SOM mineralization (also PE, whatever the process implied) and MAT, should be just linked to the spatial variations of the microbial community composition.

If we transpose our observations in a context of global warming, the negative relationship between MAT and soil basal respiration could fit with the microbial thermal adaptation response observed in several warming studies (Luo et al., 2001; Rustad et al., 2001; Eliasson et al., 2005). Moreover, our study brings new elements with the suggestion that PE generated by stoichiometric decomposition should follow the same trend of attenuation as basal respiration. Conversely, PE generated by nutrient mining should increase, because of less competition between SOM decomposers and SOM miners for FOM. Therefore, the stabilizing SOM pool may become more sensitive to C-rich residue amendment in a context of long-term temperature elevation.

### Conclusion

Our observations have been synthesized in a conceptual scheme (Figure 4), which is an adaptation of

The ISME Journal

9

#### Priming effect and climate gradients K Razanamalala et al

10

that presented by Chen et al. (2014). In Malagasy Ferralsols, the first steps of decomposition of a fresh plant residue seems to be controlled by edaphic parameters (available P, pH and bulk density), driving the synthesis, the activity and the diffusion of extracellular enzymes, and by the population density of specialized decomposers (Firmicutes and Actinomycetes). All these biotic and abiotic factors seem to depend partly on annual precipitations and partly on soil texture, leading to the highest FOM mineralization in sandy soils submitted to hot and dry climates. In clayey soil submitted to a colder and more humid climate, the lower efficiency of FOM decomposition should foster the accumulation of high-quality SOM and support a denser community of microbial opportunists and decomposers. Mean annual temperature is also the main climatic driver of PE mechanisms through the selection of specialized populations (high-quality SOM decomposers under colder climates and co-metabolizer miners under warmer climates). Therefore, colder sites, richer in high-quality SOM, promote a PE generated by the 'stoichiometry theory' mechanism while warmer sites promote a PE generated by the 'nutrient mining theory'.

### Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

#### Acknowledgements

The present study was funded by the French Foundation for Research on Biodiversity (FRB- AAP-SCEN-2013 II – CAMMiSolE project). The first author was awarded with a 5-month mobility research grant from Madagascar to France, funded by the Agropolis Foundation (AAP Open Science- CARIM project). We would like to thank Modeste Rakotondramanana (IRD) and Fidy Raharison (LRI) for their help with field sampling and Marie-Paule Razafimanantsoa (LRI) for her coaching during laboratory analyses.

#### References

- Amer F, Bouldin DR, Black CA, Duke FR. (1955). Characterization of soil phosphorus by anion exchange resin adsorption and P32-equilibration. *Plant Soil* 6: 391-408.
- Becquer T, Pétard J, Duwig C, Bourdon E, Moreau R, Herbillon AJ. (2001). Mineralogical, chemical and charge properties of Geric Ferralsols from New Caledonia. *Geoderma* 103: 291–306.
- Bernard L, Chapuis-Lardy L, Razafimbelo T, Razafindrakoto M, Pablo A-L, Legname E et al. (2012). Endogeic earthworms shape bacterial functional communities and affect organic matter mineralization in a tropical soil. ISME J 6: 213–222.
- Bernard L, Maron PA, Mougel C, Nowak V, Lévêque J, Marol C et al. (2009). Contamination of soil by copper

The ISME Journal

affects the dynamics, diversity, and activity of soil bacterial communities involved in wheat decomposition and carbon storage. *Appl Environ Microbiol* **75**: 7565–7569.

- Bernard L, Mougel C, Maron P-A, Nowak V, Lévêque J, Henault C et al. (2007). Dynamics and identification of soil microbial populations actively assimilating carbon from 13C-labelled wheat residue as estimated by DNAand RNA-SIP techniques. Environ Microbiol 9: 752–764.
- Bingeman CW, Varner JE, Martin WP. (1953). The effect of the addition of organic materials on the decomposition of an organic soil. Soil Sci Soc Am J 17: 34–38.
- Blagodatskaya E, Khomyakov N, Myachina O, Bogomolova I, Blagodatsky S, Kuzyakov Y. (2014). Microbial interactions affect sources of priming induced by cellulose. Soil Biol Biochem 74: 39–49.
- Bonkowski M, Griffiths BS, Scrimgeour C. (2000). Substrate heterogeneity and microfauna in soil organic 'hotspots' as determinants of nitrogen capture and growth of rye-grass. *Appl Soil Ecol* 14: 37–53.
- Calvet R, Barriuso E, Dubus IG. (2007). Application of two surface complexation models to the adsorption of weak organic acids by soil: an additive approach. Eur J Soil Science 58: 609–624.
- Chen R, Senbayram M, Blagodatsky S, Myachina O, Dittert K, Lin X et al. (2014). Soil C and N availability determine the priming effect: microbial N mining and stoichiometric decomposition theories. Glob Change Biol 20: 2356–2367.
- Ciesielski H, Sterckeman T, Santerne M, Willery JP. (1997). Determination of cation exchange capacity and exchangeable cations in soils by means of cobalt hexamine trichloride. Effects of experimental conditions. Agronomie 17: 1–7.
- Davidson EÅ, Janssens IA. (2006). Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature* 440: 165–173.
- Davis KER, Sangwan P, Janssen PH. (2011). Acidobacteria, Rubrobacteridae and Chloroflexi are abundant among very slow-growing and mini-colony-forming soil bacteria. *Environ Microbiol* 13: 798–805.
- de Boer W, Folman LB, Summerbell RC, Boddy L. (2005). Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. *Fems Microbiol Rev* 29: 795-811.
- de Junet A, Basile-Doelsch I, Borschneck D, Masion A, Legros S, Christine Marole C et al. (2013). Characterisation of organic matter from organo-mineral complexes in an Andosol from Reunion Island. J Anal Appl Pyrolysis 99: 92–100.
- Dequiedt S, Saby NPA, Lelievre M, Jolivet C, Thioulouse J, Toutain B et al. (2011). Biogeographical patterns of soil molecular microbial biomass as influenced by soil characteristics and management. Glob Ecol Biogeogr 20: 641–652.
- Derrien D, Plain C, Courty P-E, Gelhaye L, Moerdijk-Poortvliet TCW, Thomas F et al. (2014). Does the addition of labile substrate destabilise old soil organic matter? Soil Biol Biochem 76: 149–160.
- Eilers KG, Lauber CL, Knight R, Fierer N. (2010). Shifts in bacterial community structure associated with inputs of low molecular weight carbon compounds to soil. *Soil Biol Biochem* 42: 896–903.
- Ekelund F, Rønn R. (1994). Notes on protozoa in agricultural soil with emphasis on heterotrophic

flagellates and naked amoebae and their ecology. FEMS Microbiol Rev 15: 321–353.

- Eliason PE, McMurtrie RE, Pepper DA, Strömgren M, Linder S, Ågren GL (2005). The response of heterotrophic CO2 flux to soil warming. *Glob Change Biol* 11: 167–181.
- Fierer N, Bradford MA, Jackson RB. (2007). Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology* 88: 1354–1364.
- Fierer N, Lauber CL, Ramirez KS, Zaneveld J, Bradford MA, Knight R. (2012). Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients. *ISME J* 6: 1007–1017.
- Fierer N, Strickland MS, Liptzin D, Bradford MA, Cleveland CC. (2009). Global patterns in belowground communities. *Ecol Lett* 12: 1238–1249.
- Foesel BU, Nägele V, Naether A, Wüst PK, Weinert J, Bonkowski M et al. (2014). Determinants of Acidobacteria activity inferred from the relative abundances of 16 S rRNA transcripts in German grassland and forest soils. Environ Microbiol 16: 658-675.
- Foesel BU, Rohde M, Overmann J. (2013). Blastocatella fastidiosa gen. nov., sp. nov., isolated from semiarid savanna soil – The first described species of Acidobacteria subdivision 4. Syst Appl Microbiol 36: 82–89.
- Fontaine S, Mariotti A, Abbadie L. (2003). The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? Soil Biol Biochem 35: 837–843.
- Frøseth RB, Bleken MA. (2015). Effect of low temperature and soil type on the decomposition rate of soil organic carbon and clover leaves, and related priming effect. *Soil Biol Biochem* 80: 156–166.
- Gao Q, Schwartz MW, Zhu W, Wan Y, Qin X, Ma X et al. (2016). Changes in Global Grassland Productivity during 1982 to 2011 Attributable to Climatic Factors. *Remote Sens* 8: 384.
- Geyer KM, Kyker-Snowman E, Grandy AS, Frey SD. (2016). Microbial carbon use efficiency: accounting for population, community, and ecosystem-scale controls over the fate of metabolized organic matter. *Biogeochem* 127: 173–188.
- Griffiths BS. (1994). Microbial-feeding nematodes and protozoa in soil: Their effects on microbial activity and nitrogen mineralization in decomposition hotspots and the rhizosphere. *Plant Soil* 164: 25–33.
- Heimann M, Reichstein M. (2008). Terrestrial ecosystem carbon dynamics and climate feedbacks. Nature 451: 289-292.
- Hijmans RJ, Cameron SE, Parra JL, Jones PG, Jarvis A. (2005). Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. Int J Climatol 25: 1965–1978.
- Hunt JF, Ohno T, He Z, Honeycutt CW, Dail CB. (2007). Inhibition of phosphorus sorption to goethite, gibbsite, and kaolin by fresh and decomposed organic matter. *Biol Fertil Soils* 44: 277–288.
- Imberger KT, Chiu C-Y. (2001). Spatial changes of soil fungal and bacterial biomass from a sub-alpine coniferous forest to grassland in a humid, subtropical region. *Biol Fertil Soils* 33: 105-110.
- Jackson ML. (1958). Soil Chemical Analysis. Prentice Hall Inc: Englewood Cliffs, NJ, USA.
- Janssen PH. (2006). Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16 S rRNA and 16 S rRNA genes. Appl Environ Microbiol 72: 1719–1728.

#### Priming effect and climate gradients K Razanamalala et al

- Johnson NC, Wedin DA. (1997). Soil carbon, nutrients, and mycorrhizae during conversion of dry tropical forest to grassland. *Ecol Appl* 7: 171–182.
- Jorquera MA, Hernández MT, Rengel Z, Marschner P, Mora M, de la L. (2008). Isolation of culturable phosphobacteria with both phytate-mineralization and phosphate-solubilization activity from the rhizosphere of plants grown in a volcanic soil. *Biol Fertil Soils* 44: 1025–1034.
- Kedi B, Abadie J, Sei J, Quiquampoix H, Staunton S. (2013). Diversity of adsorption affinity and catalytic activity of fungal phosphatases adsorbed on some tropical soils. Soil Biol Biochem 56: 13–20.
- Klappenbach JA, Dunbar JM, Schmidt TM. (2000). rRNA Operon Copy Number Reflects Ecological Strategies of Bacteria. Appl Environ Microbiol 66: 1328–1333.
- Kouno K, Tuchiya Y, Ando T. (1995). Measurement of soil microbial biomass phosphorus by an anionexchange membrane method. Soil Biol Biochem 27: 1353-1357.
- Kuzyakov Y, Friedel J, Stahr K. (2000). Review of mechanisms and quantification of priming effects. Soil Biol Biochem 32: 1485–1498.
- Lienhard P, Tivet F, Chabanne A, Dequiedt S, Lelièvre M, Sayphoummie S et al. (2012). No-till and cover crops shift soil microbial abundance and diversity in Laos tropical grasslands. Agron Sustain Dev 33: 375–384.
- Luo Y, Wan S, Hui D, Wallace LL. (2001). Acclimatization of soil respiration to warming in a tall grass prairie. *Nature* 413: 622–625.
- Maron P-A, Mougel C, Ranjard L. (2011). Soil microbial diversity: Methodological strategy, spatial overview and functional interest. C R Biol 334: 403–411.
- Marstorp H, Guan X, Gong P. (2000). Relationship between dsDNA, chloroform labile C and ergosterol in soils of different organic matter contents and pH. Soil Biol Biochem 32: 879–882.
- Moorhead DL, Sinsabaugh RL. (2006). A theoretical model of litter decay and microbial interaction. *Ecol Monogr* 76: 151–174.
- Mulvaney ML. (1986). Nitrogen—Inorganic forms. In: Klute A (ed.) Methods of Soil Analysis Part 3. Chemical Methods. American Society of Agronomy: Madison, WI, USA, p 1130.
- Murphy CJ, Baggs EM, Morley N, Wall DP, Paterson E. (2015). Rhizosphere priming can promote mobilisation of N-rich compounds from soil organic matter. Soil Biol Biochem 81: 236-243.
- Neelin JD, Münnich M, Su H, Meyerson JE, Holloway CE. (2006). Tropical drying trends in global warming models and observations. PNAS 103: 6110-6115.
- Pansu M, Gautheyrou J. (2007). Handbook of Soil Analysis: Mineralogical, Organic and Inorganic Methods. Springer Science & Business Media: Berlin, Heidelberg, The Netherlands.
- Pascault N, Ranjard L, Kaisermann A, Bachar D, Christen R, Terrat S et al. (2013). Stimulation of different functional groups of bacteria by various plant residues as a driver of soil priming effect. *Ecosystems* 16: 810-822.
- Pavinato PS, Dao TH, Rosolem CA. (2010). Tillage and phosphorus management effects on enzyme-labile bioactive phosphorus availability in Cerrado Oxisols. *Geoderma* 156: 207–215.
- Plassart P, Terrat S, Thomson B, Griffiths R, Dequiedt S, Lelievre M et al. (2012). Evaluation of the ISO standard

12

11063 DNA extraction procedure for assessing soil microbial abundance and community structure. *PLoS One* 7: e44279.

- Ramarosona VH, Becquer T, Sá SO, Razafimahatratra H, Larvy Delarivière J, Blavet D et al. (2017). Mineralogical analysis of ferralitic soils in Madagascar using NIR spectroscopy. *Catena*. Available at: http://dx.doi. org/10.1016/j.catena.2017.07.016.
- Ranjard L, Richaume A. (2001). Quantitative and qualitative microscale distribution of bacteria in soil. *Res Microbiol* 152: 707–716.
- Rustad L, Campbell J, Marion G, Norby R, Mitchell M, Hartley A et al. (2001). A meta-analysis of the response of soil respiration, net nitrogen mineralization, and aboveground plant growth to experimental ecosystem warming. Oecologia 126: 543–562.Saggar S, Parshotam A, Sparling GP, Feltham CW,
- Saggar S, Parshotam A, Sparling GP, Feltham CW, Hart PBS. (1996). 14C-labelled ryegrass turnover and residence times in soils varying in clay content and mineralogy. Soil Biol Biochem 28: 1677–1686.
  Schaefer CEGR, Fabris JD, Ker JC. (2008). Minerals in the
- Schaefer CEGR, Fabris JD, Ker JC. (2008). Minerals in the clay fraction of Brazilian Latosols (Oxisols): a review. *Clay Miner* 43: 137–154.
- Tardy V, Spor A, Mathieu O, Lévèque J, Terrat S, Plassart P $et\ al.$  (2015). Shifts in microbial diversity through land

use intensity as drivers of carbon mineralization in soil. Soil Biol Biochem 90: 204-213.

- Terrat S, Christen R, Dequiedt S, Lelièvre M, Nowak V, Regnier T et al. (2012). Molecular biomass and MetaTaxogenomic assessment of soil microbial communities as influenced by soil DNA extraction procedure. Microb Biotechnol 5: 135–141.
- van Breemen N, Mulder J, Driscoll CT. (1983). Acidification and alkalinization of soils. *Plant Soil* 75: 283–308.
- Wardle DA. (2005). How plant communities influence decomposer communities. In: Bardgett R, Usher M, Hopkins D (eds.) Biological Diversity and Function in Soils (Ecological Reviews). Cambridge University Press: Cambridge, UK, pp. 119–138.
  Widmer F, Rasche F, Hartmann M, Fliessbach A. (2006).
- Widmer F, Rasche F, Hartmann M, Fliessbach A. (2006). Community structures and substrate utilization of bacteria in soils from organic and conventional farming systems of the DOK long-term field experiment. *Appl Soil Ecol* 33: 294–307.
  Will C, Thürmer A, Wollherr A, Nacke H, Herold N,
- Will C, Thürmer A, Wollherr A, Nacke H, Herold N, Schrumpf M et al. (2010). Horizon-specific bacterial community composition of german grassland soils, as revealed by pyrosequencing-based analysis of 16 S rRNA genes. Appl Environ Microbiol 76: 6751–6759.

Supplementary Information accompanies this paper on The ISME Journal website (http://www.nature.com/ismej)

# Annexe 4 : Chapitre III en photographies

- (A) Matériels de prélèvement de sol
- (B) Mise en sachet des 3 sols
- (C) Sol noir tamisé à 2 mm
- (D) Sol rouge tamisé à 2 mm
- (E) Sol jaune tamisé à 2 mm









## Annexe 5 : Figures et tableaux supplémentaires pour le chapitre III

Figure A1 : regression between phyla and granulometric organic matter fractions over the 3 studied soils.

Table A6 : Mean values and standard deviations of parameters measured during the incubation kinetics, in the control and the substrate amended treatment. Each value was calculated on measures obtained from triplicated flasks.

Treatment		Incubation time	7 days				42 days							
	Soil			Black soil Red soil			Yello	w soil	Black soil		Red soil		Yellow soil	
control	Variable	unit	Mean	± SD	Mean	± SD	Mean	± SD	Mean	± SD	Mean	± SD	Mean	± SD
	available P	mg Kg soil <sup>-1</sup>	1.267	0.152	0.652	0.095	2.276	0.077	1.169	0.089	0.538	0.124	2.358	0.184
	N-NH4 Basal respiration	mg Kg soll mg C-CO <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> kg soll <sup>-1</sup>	1.652	0.150	2.320	0.150	1.977	0.066	2.279	0.305	2.768	0.229	2.099	0.259
	Alphaproteobacteria	%	17.308	0.374	21.510	0.030	25.914	0.748	14.573	0.254	19.036	1.465	21.039	1.627
	Betaproteobacteria		8.323	0.402	3.519	0.398	2.357	0.198	8.310	0.275	3.368	0.308	3.207	0.242
	Deltaproteobacteria		3.721	0.030	2.934	0.135	2.037	0.100	3.509	0.153	2.991	0.308	2.305	0.062
	Gammaproteobacteria		2.998	0.151	1.558	0.036	1.087	0.012	2.888	0.140	1.806	0.143	1.125	0.072
	Actinobacteria		13.437	0.887	18.640	0.594	22.255	0.706	11.275	1.243	15.084	0.743	19.350	0.891
	Chloroflexi		17.915	1 203	10.744	0.310	13.020	0.591	13 246	0.100	12.460	0.405	15 334	1 506
	Verrucomicrobia		3.345	0.235	9.637	0.799	5.299	0.254	3.913	0.691	13.717	0.826	6.969	0.333
	Firmicutes		9.306	0.461	7.927	0.567	6.768	0.294	8.583	0.304	6.827	1.020	6.130	0.313
	Gemmatimonadetes		4.959	0.161	3.568	0.090	3.072	0.209	5.108	0.243	3.136	0.197	3.381	0.074
	Planctomycetes		3.067	0.909	2.065	0.124	2.886	0.344	4.453	0.523	1.974	0.157	1.690	0.523
	Bacteroidetes		1.100	0.076	2.046	0.144	0.514	0.075	1.410	0.266	2.505	0.118	0.661	0.218
	Fusobacteria		0.549	0.028	0.160	0.013	0.181	0.008	0.398	0.088	0.258	0.061	0.273	0.019
	Nitrospirae		0.505	0.020	0.123	0.018	0.151	0.005	0.472	0.008	0.192	0.018	0.327	0.041
	Cand. saccharibacteria		0.057	0.011	0.289	0.002	0.250	0.017	0.042	0.004	0.108	0.016	0.111	0.017
	Chlamydiae		0.156	0.046	0.031	0.006	0.022	0.010	0.287	0.052	0.059	0.015	0.013	0.006
Glucose														
	available P	mg Kg soil <sup>-1</sup>	0.819	0.066	0.439	0.009	1.655	0.196	1.087	0.186	0.479	0.099	1.9	0.098
	N-NH4	mg Kg soil <sup>-1</sup>	1.711	0.104	1.229	0.029	1.759	0.094	1.891	0.048	2.387	0.311	2.515	0.055
	Substrate mineralization	mg C-CO <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> kg soil <sup>-1</sup>	0.107	0.065	0.431	0.11	0.288	0.143	0.061	0.013	0.043	0.044	0.065	0.057
	Priming Effect	mg C-CO <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> kg soil <sup>-1</sup>	0.343	0.122	0.102	0.049	0.445	0.098	0.084	0.035	0.123	0.054	0.194	0.088
	Alphaproteobacteria	%	15.564	0.157	19.716	0.933	22.292	0.777	13.36	0.46	18.024	2.138	20.438	2.182
	Betaproteobacteria		14.049	0.16	4./91	0.344	6.026	0.064	13.854	0.888	4.3//	0.282	4.466	0.259
	Gammaproteobacteria		3./12	0.073	2.765	0.116	1.933	0.162	4.167	0.253	3.882	0.045	3.185	0.245
	Actinobacteria		18,476	0.236	20.023	0.807	23 53	1.647	12.451	0.683	15,796	0.155	19,245	1.278
	Acidobacteria		14.52	0,278	10,501	0.233	12,016	0,671	19,277	0,041	13,534	1.727	17.429	1.391
	Chloroflexi		9.357	0.05	14.441	1.188	13.879	2.041	12.46	0.5	15.578	0.832	14.746	2.285
	Verrucomicrobia		2.421	0.023	9.858	0.552	5.277	0.386	3.153	0.089	10.367	1.823	7.053	1.006
	Firmicutes		7.959	0.207	6.985	0.095	6.239	0.208	7.688	0.254	7.753	0.893	5.307	0.399
	Gemmatimonadetes		3.628	0.184	3.378	0.194	2.739	0.189	4.112	0.13	3.486	0.234	2.822	0.089
	Planctomycetes		3.062	0.336	2.113	0.05	3.262	0.074	3.364	0.264	1.901	0.266	2.24	0.264
	Bacteroidetes		1.8	0.034	2.545	0.176	0.74	0.232	1.656	0.308	2.395	0.645	0.681	0.066
	Fusobacteria		0.378	0.038	0.163	0.021	0.167	0.011	0.441	0.076	0.209	0.107	0.304	0.018
	Cyanobacteria		0.35	0.045	0.387	0.008	0.232	0.021	0.166	0.033	0.381	0.028	0.231	0.05
	Nitrospirae		0.309	0.072	0.082	0.009	0.128	0.024	0.44	0.012	0.16	0.024	0.308	0.051
	Cand. saccharibacteria		1.59	0.074	0.372	0.021	0.34	0.073	0.104	0.029	0.127	0.018	0.11	0.023
Bico	Cillallydiae		0.194	0.019	0.045	0.000	0.022	0.009	0.265	0.011	0.081	0.005	0.074	0.050
Mee	available P	mg Kg soil <sup>-1</sup>	2 885	0.226	1 343	0.06	4 219	0 127	2 213	0 133	1 013	0.017	3 381	0 196
	N-NH4	mg Kg soil <sup>-1</sup>	2.753	0.123	3.874	0.208	2.486	0.025	5.093	0.11	2.36	0.47	3.526	1.358
	Substrate mineralization	mg C-CO <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> kg soil <sup>-1</sup>	3.296	0.09	3.819	0.043	3.63	0.116	0.591	0.023	1.285	0.049	0.998	0.084
	Priming Effect	mg C-CO <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> kg soil <sup>-1</sup>	0.149	0.081	0.4	0.058	0.298	0.083	0.103	0.043	0.265	0.047	0.117	0.029
	Alphaproteobacteria	%	16.195	0.654	20.786	0.786	24.293	0.483	13.977	1.597	18.425	1.409	22.922	1.092
	Deltaproteobacteria		3 202	1.325	2 278	0.101	1.685	0.55	3 384	0.24	3 729	0.158	4.022	0.064
	Gammaproteobacteria		3.157	0.191	2.085	0.108	1.263	0.019	3.938	0.06	2.457	0.035	1.856	0.042
	Actinobacteria		14.653	1.071	17.096	0.837	19.272	0.669	12.79	1.615	14.393	0.659	17.863	1.366
	Acidobacteria		16.334	1.375	9.892	0.817	13.011	0.465	19.755	0.352	12.942	0.405	17.293	0.947
	Chloroflexi		10.095	0.497	12.217	0.24	13.74	0.878	10.547	1.245	14.774	1.037	13.032	1.225
	Verrucomicrobia		2.667	0.392	8.904	0.384	5.702	0.443	4.0/1	0.988	11.148	0.307	7.074	0.526
	Germatimonadetes		3.63	0.034	2 39	0.898	2 468	0.515	5 253	0.217	2 615	0.19	2 612	0.337
	Planctomycetes		2.805	0.337	1.576	0.234	3.196	0.467	3.092	0.103	2.251	0.667	2.103	0.322
	Bacteroidetes		2.826	0.549	3.587	0.314	1.102	0.012	2.788	0.017	2.695	0.412	1.216	0.304
	Fusobacteria		0.553	0.107	0.237	0.029	0.249	0.004	0.769	0.047	0.365	0.025	0.671	0.022
	Cyanobacteria Nitrospirae		0.252	0.045	0.472	0.037	0.152	0.033	0.217	0.026	0.373	0.037	0.161	0.036
	Cand. saccharibacteria		0.359	0.026	0.344	0.027	0.11	0.002	0.44	0.054	0.212	0.032	0.344	0.072
	Chlamydiae		0.163	0.016	0.037	0.012	0.022	0.008	0.218	0.045	0.159	0.041	0.044	0.006
Wheat	·													
	available P	mg Kg soil <sup>-1</sup>	1.976	0.187	0.992	0.113	3.38	0.232	2.008	0.064	0.778	0.062	2.875	0.082
	N-NH4	mg Kg soil <sup>-1</sup>	4.475	0.338	2.532	0.347	4.162	0.117	3.08	0.125	4.222	0.519	3.397	0.424
	Substrate mineralization	mg C-CO <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> kg soil <sup>-1</sup>	3.439	0.173	3.231	0.105	3.666	0.047	1.006	0.067	1.492	0.037	1.114	0.035
	Priming Effect	mg C-CO <sub>2</sub> h <sup>-1</sup> kg soil <sup>-1</sup>	0.11	0.242	0.297	0.037	0.501	0.066	0.133	0.044	0.321	0.028	0.238	0.032
	Alphaproteobacteria	%	13.638	0.47	15.511	2.019	21.109	0.781	15.048	0.699	17.424	0.674	22.953	1.749
	Betaproteobacteria		24.651	5.026	24.431	3.203	14.878	0.82	12.939	0.844	9.281	0.716	5.824	0.728
	Gammanroteobacteria		5.104 2.954	0.510	2.614	0.304	2.001	0.198	3,011	0.214	4.342	0.03	4.213	0.154
	Actinobacteria		2.654	6 168	5.331	3 288	21.0/1	0.087	5.821	0.304	2.732	0.05	20 154	1 302
	Acidobacteria		10.028	2.193	9.252	1.347	10.837	0.806	19.425	0.529	12.615	0.497	15.64	1.903
	Chloroflexi		6.428	0.407	7.91	0.685	10.38	0.561	10.399	1.384	12.076	0.495	9.967	1.564
	Verrucomicrobia		1.441	0.423	7.707	1.66	4.299	0.183	3.558	0.51	11.441	0.862	6.013	1.065
	Firmicutes		5.677	0.2	5.679	0.571	5.816	0.174	6.462	0.267	7.546	0.589	5.487	0.163
	Gemmatimonadetes		2.973	0.926	1.898	0.262	2.372	0.041	4.11	0.142	2.403	0.131	2.377	0.187
	Planctomycetes		1.977	0.631	1.132	0.414	2.034	0.34	3.409	0.462	1.587	0.399	2.187	0.715
	Bacteroidetes		2.68	1.097	5.573	0.821	2.363	0.277	2.71	0.318	3.026	0.165	1.518	0.269
	Fusobacteria		0.425	0.052	0.239	0.052	0.221	0.019	0.722	0.024	0.458	0.062	0.64	0.047
	Cyanobacteria		0.41	0.024	0.533	0.038	0.232	0.043	0.274	0.041	0.49	0.05	0.305	0.063
	NITROSPIRAE		0.244	0.071	0.073	0.01	0.123	0.01	0.46	0.086	0.232	0.018	0.315	0.06
	Chlamydiae		0.330	0.034	0.33	0.024	0.374	0.064	0.315	0.01	0.153	0.017	0.102	0.037

Table A2 : Partial Pearson correlation matrix between main bacterial $\Delta$ -phyla and substrate mineralization or
induced PE. Δ-phyla correspond to the difference between the percentage of phylum affiliated sequences in the
amended treatment vs the control treatment.

		Glucose treat			Rice trea	Wheat treatment						
	Substrate Mineralization		PE		Su mine	Ibstrate eralization	PF		Substrate mineralization		PE	
A-Phylum	7 days	42 days	7 days		7 days	42 days			7 days 12 days		7 days 42 days	
	7 uays	42 uays	7 uays	42 uays	7 uays	42 uays	7 uays	42 Udy5	7 uays	42 Udys	7 uays	42 uays
$\Delta$ - $\alpha$ -proteobacteria	-0.233	-0.335	-0.599	0.299	0.115	0.049	0.104	-0.231	0.352	-0.543	-0.178	-0.383
$\Delta$ - $\beta$ -proteobacteria	-0.756	0.123	0.554	-0.468	0.068	-0.502	-0.139	-0.114	-0.579	0.498	-0.520	0.227
$\Delta$ - $\delta$ -proteobacteria	-0.350	0.123	0.074	-0.071	-0.267	0.763	0.169	0.538	0.152	0.403	0.661	0.569
Δ-γ-proteobacteria	0.672	-0.037	<u>-0.446</u>	0.182	0.515	-0.795	0.664	<u>-0.466</u>	<u>-0.426</u>	-0.047	0.196	0.074
Δ-actinobacteria	-0.648	-0.103	0.098	-0.358	-0.615	-0.513	-0.557	-0.258	0.052	-0.698	-0.214	-0.651
Δ-acidobacteria	0.779	0.075	-0.267	0.147	0.173	0.775	0.360	0.650	0.020	0.592	0.370	0.576
Δ-chloroflexi	0.646	0.137	-0.007	-0.172	0.178	0.359	0.012	0.279	0.584	0.062	<u>0.478</u>	-0.211
Δ-verrucomicrobia	<u>0.408</u>	0.350	-0.121	0.200	0.036	-0.671	0.136	-0.664	0.514	-0.575	0.177	-0.402
Δ-firmicutes	0.346	-0.280	0.218	-0.129	0.621	0.668	0.523	0.588	<u>0.427</u>	0.810	0.722	0.689
Δ-gemmatimonadetes	0.563	-0.337	-0.288	0.191	0.080	-0.583	0.381	-0.181	0.299	<u>0.461</u>	0.849	0.417
Δ-planctomycetes	-0.045	-0.197	0.173	0.735	-0.038	0.738	-0.206	0.483	-0.063	0.057	0.348	0.344
Δ-bacteroidetes	-0.293	0.362	-0.164	-0.189	-0.252	-0.818	-0.108	-0.534	-0.314	-0.677	-0.199	-0.610

Bold. underlined and italic correlation coefficients represent P-values < respectively to 0.01. 0.05 and 0.1

# Annexe 6 : Chapitre IV en photographie

Photographies de la campagne d'échantillonnage dans la région Itasy









