



HAL
open science

Matière organique stable du sol : dynamique et mécanismes de (dé)stabilisation

Romain Lefèvre

► **To cite this version:**

Romain Lefèvre. Matière organique stable du sol : dynamique et mécanismes de (dé)stabilisation. Milieux et Changements globaux. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2015. Français. NNT : 2015PA066261 . tel-01238875

HAL Id: tel-01238875

<https://theses.hal.science/tel-01238875v1>

Submitted on 7 Dec 2015

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

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

Université Pierre et Marie Curie

Ecole doctorale « Sciences de l'Environnement d'Ile de France »

Laboratoire iEES Paris / Département Sol et Eau

Matière organique stable du sol : dynamique et mécanismes de (dé)stabilisation

Par Romain LEFEVRE

Thèse de doctorat de sciences de la terre et de l'environnement

Dirigée par Claire CHENU et Pierre BARRE

Présentée et soutenue publiquement le 30 juin 2015

Devant un jury composé de :

| | | |
|-------------------------|---|---------------------|
| M. Luc ABBADIE | Professeur Université Paris 6 | Président du jury |
| M. Alain F. PLANTE | Associate professor Univ. of Pennsylvania | Rapporteur |
| M. Jérôme BALESDENT | Directeur de thèse INRA | Rapporteur |
| Mme Cécile MONARD | Maître de conférences Univ. Rennes1 | Examinatrice |
| Mme Tiphaine CHEVALLIER | Chargée de recherche IRD | Examinatrice |
| Mme Claire CHENU | Professeur AgroParisTech | Directrice de thèse |
| M. Pierre BARRE | Chargé de recherche CNRS | Directeur de thèse |

A mon père et mon frère,

Remerciements

Tout travail se disant scientifique se doit avant tout de reposer sur l'honnêteté. Il est donc temps pour moi de me montrer honnête et de prendre le temps de remercier publiquement, non sans une certaine émotion, toutes celles et ceux qui ont contribué à ce travail et sans qui il m'aurait été autrement plus ardu, pour ne pas dire impossible, de réaliser cette thèse.

Je tiens tout d'abord à remercier les membres de mon jury de thèse qui m'ont fait l'honneur d'évaluer ce travail. Merci donc à Luc Abbadie d'avoir accepté le rôle de président de jury, merci à mes deux rapporteurs Alain F. Plante et Jérôme Balesdent qu'à mes examinatrices Cécile Monard et Tiphaine Chevallier pour l'examen minutieux de ce manuscrit de thèse ainsi pour leur commentaires pertinents. Merci également à la région Ile-de-France et au GIS R2DS d'avoir financé cette thèse ainsi qu'à l'ADEME et au Climate-KIC France d'avoir financé une partie de ce travail de recherche.

Je tiens ensuite à remercier chaleureusement mes deux directeurs de thèse Claire Chenu et Pierre Barré tant pour avoir accepté d'encadrer ce travail que pour leur implication et leur dévouement à mon égard. Car il est une chose de se soucier d'un projet, il en est une autre de se soucier de ceux qu'on encadre et si cette thèse aboutit aujourd'hui c'est que vous avez su faire les deux. Alors merci ! Merci de m'avoir accordé une si grande confiance, et ce depuis le tout début de ce projet quand je n'étais alors qu'en master et que des échantillons si précieux devaient être utilisés. Merci de m'avoir choisi pour un projet si passionnant, d'avoir su me comprendre, me garder sur les rails. Merci Claire pour ton côté « mère poule », ta gestion des choses, ton expérience de chercheuse et d'enseignante que tu as partagée avec moi, merci d'ailleurs de m'avoir mis le pied à l'étrier pour l'enseignement ! Merci Pierre pour ton dynamisme, ton humour, et ton pragmatisme dont j'espère avoir appris. Merci pour ce côté « calme dans la tempête » qui fait qu'au final on s'en sort et pour la rigolade autour de moments « c'est sioux », « c'est pas GRAVE » et « faut savoir accepter sa perte ».

J'adresse également mes remerciements les plus sincères aux membres de mon comité de pilotage de thèse. Merci donc à Antonio Bispo, Thomas Eglin, Martial Bernoux, Pierre-Alain Maron et Fernando E. Moyano pour leurs précieux conseils. J'ai apprécié l'ambiance constructive de ces réunions avec vous qui ne demandiez qu'à aider. Merci beaucoup. Je

profite aussi de l'occasion qui m'est donnée pour remercier une espèce en voie d'extinction : ces « petites » mains qui font que les problèmes techniques s'envolent, et qui maintiennent, gèrent le matériel de recherche... et ce, au quotidien. Merci donc à Cyril Girardin, Gérard Bardoux (ta plante est toujours vivante !) et Daniel Billou pour leur aide lors des mesures au labo.

Mes remerciements vont également à toutes celles et ceux qui ont jalonné mon quotidien au sein de ce laboratoire : Cornélia, Audrey, Marie-France, Abad, Naoise, Valérie, Nimai, Marco, Sabrina, Remigio, Karen, Nadezhda, Céline, Kadmiel, Philippe, Patricia et Thierry. J'adresse un clin d'œil particulier et tous mes encouragements à ceux qui sont en thèse au sein de ce laboratoire ou qui sont passé par Grignon: Suzanne, Justine, Alex, Adila, Kévin, Baptiste et Rémi.

S'il est indispensable de bénéficier d'une atmosphère agréable au laboratoire, il l'est tout autant chez soi. Je remercie donc mes colocataires Clémence, Gaspard, Anna, Armindo et Fez pour leur soutien notamment dans la dernière ligne droite, pour les soirées à thèmes, les « es-tu tendue ? », les burgers quizz et autres joyeusetés. Dans la même lignée je salue tous les doctorants du village de Grignon et je leur souhaite à tous courage et réussite.

Je tiens également à remercier toutes celles et ceux avec qui j'ai eu le privilège de collaborer pendant cette thèse. Merci donc aux gestionnaires des différents sites de jachère nue Sabine Houot, Fok van Oort, Thomas Kätterer et Bent T. Christensen pour leur confiance et leur implication. Merci aux Dijonnais de la plateforme Genosol : Pierre-Alain Maron, Samuel Dequiedt, Sébastien Terrat et Lionel Ranjard pour leur accueil et leur gentillesse. Cela a été un réel plaisir de travailler avec vous tant vous avez su vulgariser votre monde à un non initié comme moi. Et merci également à Marion Schrupf, Susan Trumbore, Axel Steinhof et Theresa Kloetzing pour leur accueil au sein du Max Planck Institute de Jena.

Je tiens également à saluer des gens côtoyés lors de leurs passages à Grignon ou bien en colloque à Bari ou en Savoie et qui me rappellent de bons moments, merci donc à Aurore Kaisermann, Jean-Christophe Lata, Aleksandar Rankovic, Thomas Lerch, Léa Beaumelle, Marie Alexis, Lauric Cécillon, Olivier Crouzet et Mickaël Hedde.

Je tiens également à remercier le département SIAFEE pour l'opportunité qui m'a été donné d'enseigner au sein d'AgroParisTech et pour la confiance que l'on m'a accordé. Je

pense notamment à Joël Michelin, David Montagne, Jean-Marc Gilliot, Emmanuelle Vaudour, Laure Vieublé, Claire-Sophie Haudin, Sébastien Saint-Jean, Erwan Personne, Benoît Gabrielle, Jean-François Castell, Antoine Gardarin, Bruno Ferry et Philippe Jauzein. C'était un privilège et une joie d'apprendre le métier d'enseignant à vos côtés que ce soit en salle de TD ou sur le terrain.

Plus de quatre années sur un campus rempli d'ingénieurs agronomes ça marque ! Comment ne pas prendre le temps de remercier tous ces élèves des promotions 185, 186, 187, 188 et 189 de l'AgroparisTech quand j'ai tellement appris de leur spontanéité et de leur dynamisme. Merci donc à tous ceux qui ont fait mon quotidien pendant ces quatre années : « La coloc 85 », Maelle, Marie, Maïwenn, Duc, Margot, Baptiste, Tinmar, Sylvain, Batou, Hugo, Alex Cussonneau, Démon, Nico, Paul, Jules, Thibaut, Elie, Juliette, Lou, le char Leclerc, Hortense, Inès, Valou, Mariette, PoulhazanE, El Pichon, La muraille, Colgate, Gabin, Pedro, Azam, Motte, Etienne, Jean-Bernard. Que tu sois handballeur, FIFon, K-viste ou même mutos sois remercié toi qui a fait mon quotidien ces quatres années !

Et enfin, merci à mes supporters de toujours, ceux dont je n'arrive pas à comprendre leur tolérance et leur patience à mon sujet depuis vingt-sept ans. Merci Quentin de m'avoir répété ta confiance en moi et de m'avoir soutenu et merci Papa d'avoir posé les fondations de mon éducation sans lesquelles je n'en serais pas là. Cette thèse, elle est pour vous.

Sommaire

| | |
|---|----|
| Remerciements | 2 |
| Sommaire | 5 |
| Introduction | 7 |
| I) La matière organique du sol (MOS) | 7 |
| 1) Définition | 7 |
| 2) Fonctions | 7 |
| 3) Dynamique et mécanismes de protection | 10 |
| 4) Modéliser, compartimenter la MOS : définitions et nomenclatures des « pools » de carbone | 18 |
| II) Méthodes d'étude de la MOS stable à l'échelle pluri-décennale. Apport des essais de jachère nue de longue durée | 21 |
| III) La sensibilité à la température de la minéralisation de la MOS | 26 |
| 1) Définition | 26 |
| 2) Les estimateurs de la sensibilité à la température | 27 |
| 3) Une propriété de la MOS débattue depuis longtemps | 29 |
| IV) Les microorganismes du sol | 30 |
| 1) Abondance, diversité, fonctions | 30 |
| 2) L'activité des communautés microbiennes – facteurs de régulation | 31 |
| V) Problématique et plan de la thèse | 36 |
| Chapitre 1: Sensibilité à la température comparée de la minéralisation de la MOS stable et non stable. | 37 |
| Abstract | 38 |
| Résumé | 39 |
| Introduction | 40 |
| Material and Methods | 41 |
| Soils | 41 |
| Incubation and respiration measurements | 43 |
| SOC decomposability and temperature sensitivity | 43 |
| Statistical analysis | 44 |
| Results | 45 |
| SOC mineralization rates/decomposability | 45 |
| Activation energy | 48 |
| Relationship between activation energy and SOC mean residence time | 49 |
| Discussion | 50 |
| Chapitre 2: Sensibilité à la température des communautés microbiennes liées à la MOS stable et non stable. | 55 |
| Abstract | 56 |
| Résumé | 57 |
| Introduction | 58 |
| Material and Methods | 60 |
| Soils | 60 |
| Incubation and respiration measurements | 62 |
| Sampling of incubated soils and characterization | 62 |
| Soil DNA extraction | 63 |
| DNA purification and quantification | 63 |
| Pyrosequencing of 16S and 18S rRNA gene sequences | 63 |
| Bioinformatic analysis of 16S and 18S rRNA gene sequences | 64 |

| | |
|--|-----|
| Results..... | 66 |
| Impact of long term bare fallow and temperature incubation on soil organic carbon content..... | 66 |
| Impact of long term bare fallow and temperature incubation on microbial biomass | 67 |
| Impact of long term bare fallow and temperature incubation on soil microbial diversity..... | 69 |
| Microbial community taxonomic composition | 72 |
| Discussion | 75 |
| Validation of the experimental set-up..... | 75 |
| Soil microbial biomass..... | 76 |
| Microbial richness and evenness | 76 |
| Microbial community structure | 78 |
| Conclusion | 81 |
| Chapitre 3: Relation entre âge et stabilité de la MOS. | 82 |
| Abstract | 83 |
| Résumé..... | 84 |
| Introduction..... | 85 |
| Material and Methods | 87 |
| Soil and sampling | 87 |
| Fractionation..... | 88 |
| Elemental and stable isotopes analysis | 88 |
| Radiocarbon analysis | 89 |
| SOC turnovers and ages and calculation..... | 89 |
| Evaluation of the contribution of new C inputs to total SOC during the bare fallow | 90 |
| Evaluation of the contribution of C inputs to total SOC during the bare fallow to ¹⁴ C signature of SOC | 91 |
| Statistical analysis..... | 91 |
| Results and discussion | 92 |
| Carbon content evolution with bare fallow duration in bulk soil and clay fractions..... | 92 |
| Char content estimation | 93 |
| Radiocarbon contents..... | 94 |
| Evolution of the age of non-char SOC with bare fallow duration..... | 95 |
| Possible contribution of algae to the ¹⁴ C content of soils | 96 |
| Conclusion | 98 |
| Conclusion générale et perspectives..... | 99 |
| Bibliographie..... | 109 |
| Annexes | 133 |
| Annexe – Chapitre 1 | 133 |
| Annexe – Chapitre 2 | 134 |
| Table des illustrations..... | 137 |
| Table des tableaux | 139 |

Introduction

I) La matière organique du sol (MOS)

1) Définition

La matière organique du sol (MOS) désigne une large gamme de composés allant des organismes vivants à la matière organique morte de degrés de dégradation, de composition et de complexité variables. La taille de ce compartiment résulte d'un équilibre entre les entrées (chute de litière, exsudats racinaires, racines et animaux morts, fixation photosynthétique par des micro-algues et des cyanobactéries...) et les sorties (minéralisation par les micro-organismes, pertes par lixiviation ou lessivage...) de matières organiques.

La MOS représente le plus important réservoir de carbone (C) continental, dont la taille est estimée dans le premier mètre de sol entre 1500 et 2000 Pg C. Jobbagy et Jackson (2000) ont quant à eux estimé le stock global de C de 2344 Pg C dans les trois premiers mètres de sol (Jobbagy et Jackson, 2000). Compte tenu de sa taille et des interactions que ce compartiment entretient avec l'atmosphère, le C organique du sol est de première importance pour la régulation du cycle du C et du climat. Réciproquement, les entrées et sorties de carbone du sol sont en partie contrôlées par le climat (i.e., la température et les précipitations) et la concentration atmosphérique en dioxyde de carbone (CO₂), qui contrôlent notamment l'activité microbienne du sol et la photosynthèse.

2) Fonctions

La MOS assure plusieurs fonctions et services écosystémiques (voir figure 3). La MOS forme avec les argiles le « complexe argilo-humique » qui, grâce à ses charges de surface négatives, adsorbe une part des cations de la solution du sol (e.g. ions calcium, potassium, magnésium, sodium, etc...). Cette propriété, désignée, capacité d'échange cationique (CEC) contribue au stockage et à la mise à disposition ultérieure d'éléments nutritifs pour les plantes. La CEC permet en outre de lutter contre les pertes en éléments nutritifs par lixiviation.

La MOS constitue également la source principale d'énergie et d'éléments nutritifs pour les organismes du sol. Les organismes du sol (notamment les microorganismes) minéralisent la MOS et libèrent des ions et des molécules sous une forme soluble et assimilable pour bon nombre d'autres organismes comme les plantes. La MOS permet de ce fait le maintien de l'activité biologique du sol ainsi que la productivité des écosystèmes.

Une autre fonction assurée par la MOS est celle de l'amélioration des propriétés physiques du sol. En favorisant l'agrégation des particules du sol, la MOS améliore la perméabilité, l'aération et la stabilité structurale du sol. La MOS joue donc un rôle important dans la lutte contre la battance due aux pluies (voir figures 1 et 2) et contre le tassement notamment dû au travail du sol par les engins agricoles.



Figure 1 : Battance importante sur une parcelle maintenue en jachère nue pendant 80 ans et donc fortement appauvrie en MO.

Source : [Claire Chenu]

Enfin la MOS a une influence particulière sur la qualité des compartiments avec lesquels le sol interagit. La MOS du sol participe à la qualité des cultures en limitant le prélèvement par les plantes des polluants organiques (e.g. pesticides) et minéraux (e.g. métaux lourds). La MOS a également un rôle majeur sur la qualité de l'eau. Cette dernière pouvant être améliorée grâce au rôle de filtre de la MOS vis-à-vis des métaux et des pesticides déjà évoqués ou bien détériorée via le relargage parfois excessif de polluants minéraux (e.g. nitrates, phosphates, etc...). Enfin, la MOS influence la qualité de l'air via les émissions de différents gaz tels que

le dioxyde de carbone, le méthane, les composés organiques volatils ou les gaz azotés (e.g. N₂O, NO, etc...).

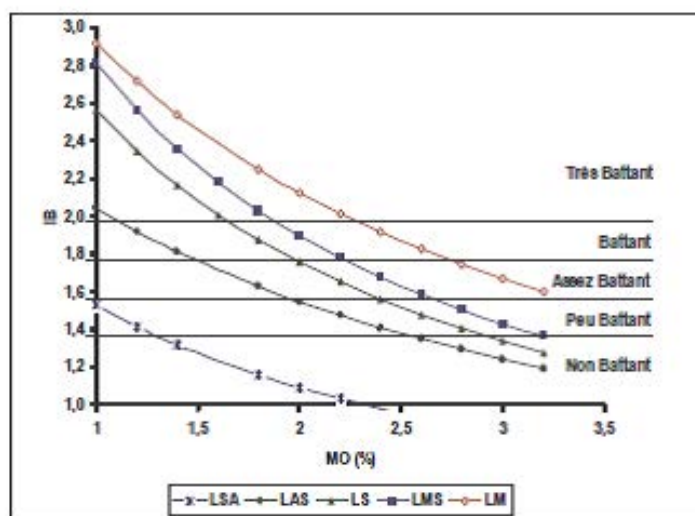


Figure 2 : Variation de l'indice de battance du sol en fonction de sa teneur en matière organique.

Source : [Agro-Transfert R&T, 2007]



Source : d'après Chenu et Balabane, 2001
in Perspectives Agricoles n°272

Figure 3 : Les fonctions remplies par les matières organiques du sol.

Source : [Chenu et Balabane, 2001, Perspectives Agricoles n°272, page 43]

3) Dynamique et mécanismes de protection

La MOS contient des composés aux temps de résidence contrastés.

Le cycle du carbone (C) désigne l'ensemble des réservoirs et des flux de C organique et minéral. Ce cycle comprend quatre grands réservoirs que sont l'hydrosphère, la lithosphère, l'atmosphère et la biosphère (Figure 4). A des pas de temps géologiques courts (de l'ordre de l'an au siècle), l'essentiel des échanges de C a lieu entre la biosphère et l'atmosphère à travers la photosynthèse et la respiration, entre l'atmosphère et l'hydrosphère à travers l'équilibre de dissolution des carbonates marins, et entre les couches profondes et superficielles des océans. La dynamique de la matière organique du sol correspond quant à elle à différents flux : le flux entrant principalement via les litières végétales et les flux sortants que sont la minéralisation et les pertes par ruissellement et lixiviation. Le devenir immédiat des litières (matière organique fraîche) est pour une part la minéralisation (qui génère le flux de C vers l'atmosphère) et pour l'autre part l'humification. La minéralisation est principalement réalisée par les microorganismes du sol qui transforment la matière organique en composés dissous et en gaz carbonés, principalement du dioxyde de carbone (CO_2). L'autre part de la matière organique fraîche est quant à elle humifiée et pourra être minéralisée plus lentement. On comprend ainsi que l'humification est un terme recouvrant l'ensemble des transformations physiques et biochimiques que subissent la matière organique fraîche et la matière organique déjà transformée et qui conduisent à la formation de l'humus (Calvet et al., 2011).

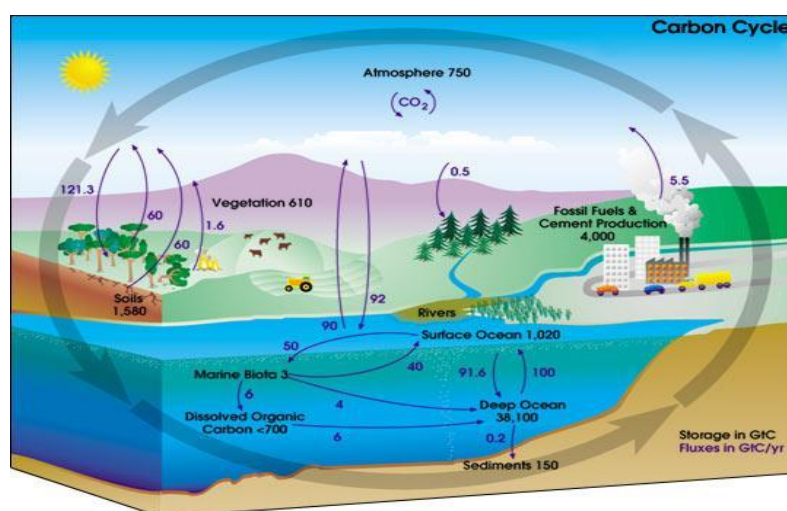


Figure 4 : Le cycle du carbone.

Source : [http://www.nasa.gov/centers/langley/news/researchernews/rn_carboncycle_prt.htm]

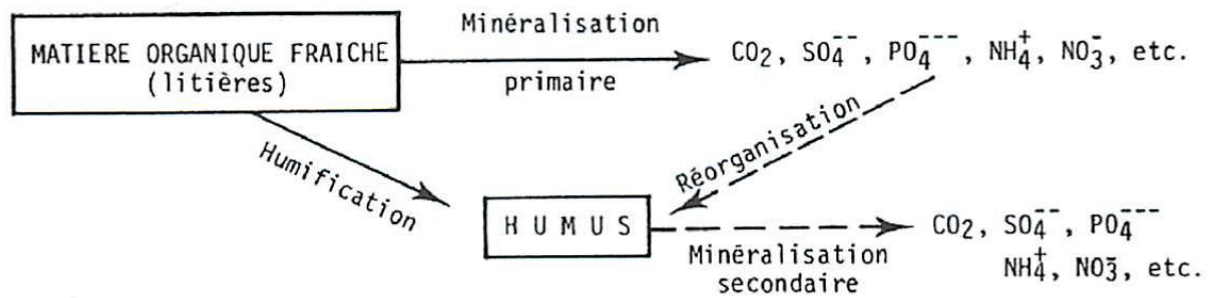


Figure 5 : Décomposition de la matière organique fraîche : minéralisation et humification.

Source : [Duchaufour P., 2001. Introduction à la science du sol : Sol, végétation, environnement, 6^{ème} édition. Editions Dunod, 331p.]

Une partie de la matière organique fraîche est donc rapidement minéralisée tandis qu'une autre part est progressivement humifiée (voir figure 5) et, de ce fait reste dans le sol. On anticipe donc qu'il existe une hétérogénéité de temps de résidence pour la MOS. En effet si certains composés sont minéralisés en quelques heures, il a déjà été montré qu'une fraction de la MOS, la MOS dite réfractaire, stable ou encore inerte, peut avoir un temps de résidence séculaire voire millénaire (e.g. Trumbore, 1997; Jenkinson and Coleman, 2008).

La matière organique stable est la fraction de la MOS qui se décompose le plus lentement. Il est important de préciser que la proportion de matière organique stable d'un sol dépend avant tout de la définition et du temps de résidence que l'on associe à la notion de carbone stable (Falloon et al., 1998). C'est sur cette fraction que la MOS que porte principalement mon travail de thèse.

La respiration microbienne : un proxy pour la stabilité de la MOS dans l'environnement.

La respiration d'origine microbienne est une des composantes principales du flux de C sortant des écosystèmes vers l'atmosphère. On estime généralement que la respiration microbienne représente environ 90% de la respiration hétérotrophe du sol (Lavelle et Spain, 2001). De ce fait, la respiration microbienne constitue au laboratoire un proxy courant pour étudier la stabilité de la MOS dans son environnement. Le flux de C respiré peut être mesuré aisément lors d'une incubation au laboratoire selon plusieurs techniques. Le flux de C respiré peut être

mesuré par piégeage du CO₂ produit dans une solution de soude de concentration connue. Le dosage de la soude par un acide fort en fin d'incubation permet de calculer la quantité de CO₂ produite. Une seconde méthode emploie un spectromètre infra-rouge non dispersif et consiste en la mesure de l'absorbance du CO₂ dans le spectre infra-rouge. Cette technique comporte néanmoins l'inconvénient de ne pas être spécifique puisque la vapeur d'eau, qui peut constituer un gaz en quantité non négligeable en incubation, absorbe également dans le spectre infra-rouge. Enfin, une troisième méthode emploie un micro-chromatographe en phase gazeuse couplé à un catharomètre. L'échantillon est ainsi prélevé et injecté dans une colonne de chromatographie qui sépare les différents gaz selon leur poids moléculaire et leur affinité avec la colonne. Une fois séparés, les gaz passent à des temps différentiels à travers le catharomètre dont la conductivité électrique change au contact des gaz. Les différences de potentiels enregistrées sont ensuite converties en une concentration en gaz par un logiciel de calibration. C'est cette dernière méthode qui est couramment utilisée lors de cette étude.

Processus de stabilisation de la matière organique dans les sols

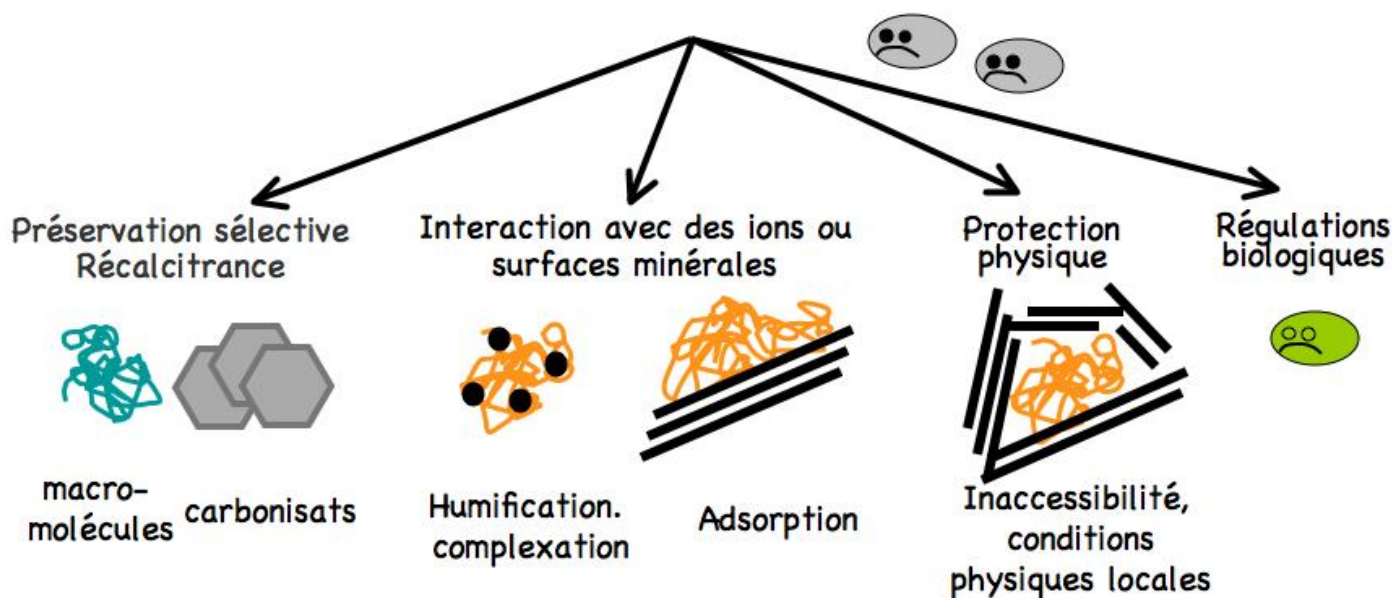


Figure 6 : Mécanismes de protection de la matière organique du sol.

Source : [Chenu et al., 2009]

Schmidt et al. définissent la persistance (soit la résistance à la décomposition) de la MOS comme une propriété des écosystèmes. L'introduction de cette notion permet aux auteurs de souligner que la dynamique de la MOS n'est pas la simple résultante de la récalcitrance chimique de la MOS. En effet, il semble que la dynamique de la MOS soit contrôlée par les conditions physico-chimiques et biologiques du milieu environnant dans leur ensemble qui peuvent modifier la probabilité (et donc la vitesse) de la décomposition de la MOS (Schmidt et al., 2011).

La protection de la MOS vis-à-vis de sa dégradation est donc multi-factorielle (Figure 6). On pourra citer l'importance de la nature des matières organiques, de l'abondance et la diversité des décomposeurs et de tous les facteurs affectant leur activité à l'échelle locale ou globale (le climat, le pH, l'état rédox, les composés toxiques, etc...), ainsi que la disponibilité et l'accessibilité des MO aux décomposeurs.

Dans la section ci-dessous on se limitera aux mécanismes relevant de la récalcitrance chimique, de l'interaction de la MOS avec la fraction minérale, et de l'occlusion (ou de l'isolement physique) de la MOS.

La protection chimique et les notions de qualité et de récalcitrance chimique de la MOS.

Dungait et al. (2012) définissent le terme de qualité de la MOS vis-à-vis de sa biodégradation comme étant sa capacité à (i) fournir des molécules organiques aux métabolismes cataboliques et anaboliques, (ii) fournir les autres éléments nutritifs aux décomposeurs du sol et (iii) comme le degré auquel ses propriétés propres retardent son utilisation (Dungait et al., 2012). D'autres auteurs précisent également que les facteurs pouvant retarder l'utilisation d'un substrat peuvent être, entre autres, leur caractère polymérique plutôt que monomérique, la diversité des groupes chimiques fonctionnels (Calvet et al., 2011), leur hydrophobicité leur capacité à inhiber ou encore à complexer les enzymes (Freeman et al., 2004 ; Sinsabaugh, 2010). A travers les processus de minéralisation et d'humification déjà évoqués, la matière organique fraîche est peu à peu transformée et sa nature chimique change. Les microorganismes qui sont les principaux acteurs de la décomposition de la matière organique du sol ont tendance à dégrader de manière préférentielle des substrats, les plus facilement utilisables, dits labiles. Ces substrats ont en général pour avantage d'être riches en éléments nutritifs qui sont d'ordinaire limitants dans la solution du sol (e.g. azote, phosphore, soufre, etc...), riches en énergie et/ou ne nécessitant pas d'enzymes complexes pour leur dégradation.

De ce fait, au cours de la décomposition, la proportion de substrats labiles doit diminuer progressivement tandis qu'à l'inverse la proportion de substrats non labiles ou récalcitrants augmente. Cette théorie a néanmoins été remise en question récemment suite à des travaux démontrant la capacité des microorganismes du sol à dégrader en quelques années au plus n'importe quel substrat organique rencontré (pourvu qu'il soit accessible et non adsorbé) et ce, quelle que soit la nature chimique de la MOS (revue dans Dungait et al., 2012). En effet, il a été montré que certains composés réputés récalcitrants et faisant partie du cocktail moléculaire composant la MOS comme la lignine, les chaînes d'alcane ou les substances humiques ne persistent pas plus longtemps dans les sols que le carbone total de la MOS (Amelung et al., 2008).

D'un point de vue expérimental, il est possible de mettre en évidence la récalcitrance chimique de composés organiques en les apportant à des sols, en incubant ces sols puis en mesurant la respiration du sol au cours de l'incubation. Ainsi, dans la littérature, certaines molécules comme de sucres simples, des acides aminés ou encore des acides carboxyliques sont utilisés comme proxy des exsudats racinaires – considérés comme labiles (e.g. Eilers et al., 2010) tandis que d'autres molécules comme les lignines, les cutines ou les subérines sont considérées comme récalcitrantes (von Lutzow et al., 2006). La possibilité de synthétiser ces molécules avec une teneur enrichie en isotopes stables comme le ^{13}C , ainsi que les progrès en analyses isotopiques (i.e. technique utilisant un GC-IRMS couplant un chromatographe en phase gazeuse et un spectromètre de masse à ratio isotopique) permettent de suivre la biodégradation progressive de ces composés et de comparer leurs vitesses de minéralisation respectives.

Ainsi, des expériences de marquage de molécules d'extrait de lignine au ^{13}C ont montré que la lignine quantifiable par oxydation au CuO se décompose en 1 à 5 ans (Rasse et al., 2006; Dungait et al., 2012 ; Thévenot et al., 2010). La récalcitrance chimique de la lignine, qui entraîne sa préservation sélective ne s'exprime donc que pendant les premières étapes de décomposition de la MOS, sa décomposition devenant ensuite plus rapide que la décomposition moyenne de la MO totale du sol (Marschner et al., 2008). Des études utilisant la même approche de marquage au ^{13}C ont montré des propriétés similaires pour les longues chaînes d'alcane autrefois supposées récalcitrantes du fait de leur nature apolaire (Derenne et Largeau, 2001; Quénéa et al., 2004).

Le cas des substances humiques, fraction de la MOS issue d'un fractionnement chimique, est quant à lui plus controversé. La communauté scientifique s'accorde en général sur le fait que la cinétique de dégradation de ces composés est en général lente dans le sol du fait de leur masse moléculaire et de leur nature chimique qui les rendent inattaquables pour beaucoup d'enzymes (Marschner et al., 2008). Néanmoins il a déjà été montré que les substances humiques sont assez biodégradables si elles sont extraites du sol (Stevenson, 1982). Un mécanisme différent de la récalcitrance chimique doit donc expliquer la stabilité dans le sol des substances humiques. De plus, les substances humiques ne sont pas considérées comme une fraction chimique pertinente écologiquement (Wander et al., 2004), mais plutôt comme la résultante de l'assemblage de matériaux partiellement dégradés (von Lützow et al., 2008). Différents travaux, rapportés par Schmidt et al. ont démontré que certains composés organiques du sol que l'on a nommé substances humiques, ne correspondent pas à des macromolécules complexes formées dans le sol mais plutôt à des composés moléculaires simples formant des édifices plurimoléculaires dans certaines conditions (Schmidt et al., 2011).

Le processus de récalcitrance comme mécanisme de stabilisation ne peut pas être complètement écarté puisqu'il a été montré (i) que la proportion de certains composés comme les composés aromatiques augmente avec la profondeur alors en parallèle avec l'augmentation du temps de résidence du C en profondeur (Eusterhues et al., 2007) et (ii) que certains composés, comme les charbons, sont peu biodégradables (von Lutzow et al., 2006). Il apparaît néanmoins que dès que les microorganismes peuvent accéder à la MOS, ils peuvent la dégrader en quelques années en général. Cette capacité des microorganismes à pouvoir dégrader un large spectre de composés organiques est en accord avec l'idée selon laquelle « tout est partout mais l'environnement sélectionne » (de Wilt et Bouvier, 2006). Cette incapacité de la communauté scientifique à expliquer la stabilisation à long terme de la MOS par sa nature chimique seule, l'a conduit à explorer d'autres mécanismes potentiels basés sur ce que Eckschmitt les « biologically nonpreferred soil spaces » (Eckschmitt et al., 2008).

La protection physico-chimique.

Le sol est constitué d'une phase organique déjà évoquée et d'une phase minérale majoritaire. Cette phase minérale est constituée de particules minérales de différentes tailles et résulte de l'altération du matériau parental sous-jacent ou d'un apport exogène. Ces particules minérales des plus grandes aux plus petites sont : les sables (dont le diamètre est compris entre 2mm et 50 μ m), les limons (dont le diamètre est compris entre 2 μ m et 50 μ m) et les argiles (qui sont inférieures à 2 μ m). La protection physico-chimique consiste en la réduction de la biodégradabilité des MOS consécutive à leur association avec la phase minérale, et plus spécifiquement avec les argiles ou les colloïdes de fer et d'aluminium (von Lützow et al., 2006). Différentes interactions sont possibles parmi lesquelles l'adsorption, la co-précipitation ou la complexation (voir figure 7).

La nature de l'interaction entre la phase organique et la phase minérale est diverse (i.e., liaisons de Van der Waals, hydrogène, hydrophobes, transfert de charge, etc...) (van Oepen et al., 1991) et implique une énergie supplémentaire à fournir pour déprotéger la MOS de l'ordre de 0 à 80 kJ mol⁻¹ (Enell et al., 2005). Cette énergie dépendrait non seulement de la nature de la molécule protégée et de la nature de la liaison engagée avec la phase minérale, mais pourrait également dépendre de l'âge de la liaison, cette énergie augmentant avec la durée de contact (Hatzinger et Alexander, 1995). Au laboratoire, on peut estimer l'énergie de liaison d'un composé aux particules minérales du sol en faisant percoler ce composé à différentes températures dans des colonnes de sol. On parvient ainsi à calculer une énergie de désorption propre au composé. Cette énergie serait croissante avec le poids moléculaire et l'hydrophobicité des composés sorbés (Enell et al., 2005).

La protection physique de la MOS

Une large proportion de la MOS est thermodynamiquement labile mais persiste dans le sol à cause de la formation de microstructures inaccessibles aux microorganismes décomposeurs ou à leurs enzymes extracellulaires (Kleber et al., 2011). Ces auteurs ont d'ailleurs suggéré que la stabilisation de la MOS par association avec la matrice minérale est plus efficace à long-terme que la récalcitrance chimique de la MOS. La protection physique est, comme la protection physico-chimique, un processus résultant de l'interaction entre la phase organique et la phase

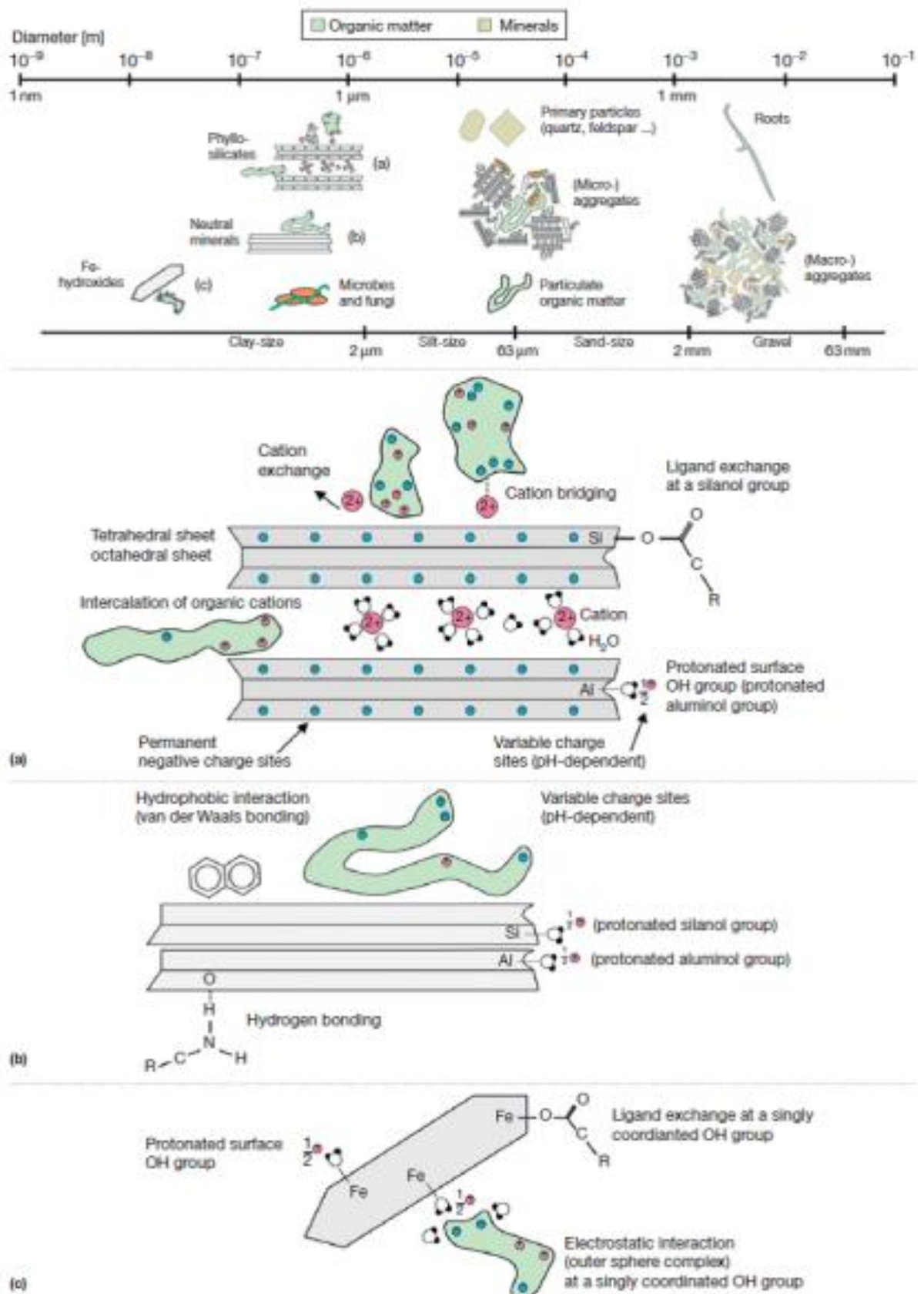


Figure 7 : Modèles d'interactions de la matière organique avec les minéraux et les agrégats à différentes échelles spatiales.

Source : [Kögel Knabner et Amelung, 2014]

minérale du sol, le tout formant des organisations tridimensionnelles et des agrégats de taille variable. Ce mécanisme a notamment été mis en lumière après qu'il ait été observé une augmentation de la minéralisation des MOS suite à la destruction des agrégats du sol (revue dans Balesdent et al., 2000). Il a par ailleurs été observé que la protection de la MOS vis-à-vis de la minéralisation semble plus efficace quand la stabilité des agrégats est plus forte (i.e. quand le turnover des agrégats est plus lent). Cette interaction, à une échelle inférieure à 20 μ m, est d'origine abiotique et a notamment pour origine les oxydes et les hydroxydes de fer et d'aluminium (Duiker et al., 2003) et rend la MOS inaccessible aux microorganismes et à leurs enzymes (von Lützow et al., 2006). Néanmoins la macrofaune et la microfaune du sol sont en général fortement impliqués dans la formation des agrégats puisqu'il a été montré que les sécrétions, mucus, exsudats mais aussi les racines et les cellules microbiennes agissent comme des ciments des agrégats et se retrouvent, du fait, protégés de la minéralisation également (von Lützow et al., 2006). Les molécules organiques retrouvées au contact des surfaces minérales, comme les résidus microbiens, sont souvent très riches en énergies et peu humifiées (Schmidt et al., 2011). Ces résidus microbiens comme les polysaccharides sont par ailleurs bien plus fréquemment retrouvés dans la fraction associée aux argiles que les résidus végétaux (Dümig et al., 2012).

Enfin, la MOS est stabilisée de manière d'autant plus efficace que la fraction minérale à laquelle la MOS est associée est faite de particules de petite taille (Balesdent, 1996; John et al., 2005). La MOS piégée dans les agrégats du sol et séparée par densimétrie est par ailleurs généralement plus vieille (datation au ^{14}C) même si le principal facteur influençant l'âge de la MOS reste l'enfouissement de la MOS en profondeur (Schrumpf et al., 2013). Néanmoins, la formation et la destruction régulière des agrégats (Baldock et Skjemstad 2000, Virto et al., 2010) suggèrent que ce mécanisme ne puisse expliquer la stabilisation de la MOS qu'à l'échelle de quelques décennies tout au plus.

4) Modéliser, compartimenter la MOS : définitions et nomenclatures des « pools » de carbone

Avec l'intensification des pratiques culturales, le changement d'usage des terres ou le réchauffement climatique et leurs effets sur la dynamique globale du cycle du C, les

scientifiques ont ressenti un besoin croissant en modèles capables de simuler la dynamique du C et de prévoir des variables comme la productivité future des écosystèmes ou encore les stocks de C organique du sol. La plupart des modèles qui simulent la dynamique de la MOS sont des modèles dits linéaires on peut citer par exemple les modèles Century (Figure 9) et RothC (Figure 8) (Parton et al., 1987 ; Coleman et Jenkinson, 1996). Ces modèles fractionnent le stock de MOS en plusieurs compartiments dont les cinétiques de décroissance sont des cinétiques d'ordre 1. Ces compartiments sont créés sous l'hypothèse qu'ils représentent une fraction homogène de la MOS au plan cinétique, résultant d'une combinaison de propriétés physiques et biochimiques. Ce sont ces propriétés qui doivent expliquer la cinétique de minéralisation propre à ces compartiments (Kleber, 2010). Cependant, malgré plus de deux décennies d'efforts pour relier des propriétés de fractions séparables de la MOS avec leur cinétique de minéralisation, il convient d'admettre que la volonté de « measure the modellable and model the measurable » n'a pas encore abouti . Dans les modèles linéaires, les compartiments correspondant aux MOS « récentes » ou « fraîches » sont dégradées selon un taux de décroissance traduisant la perte moyenne du compartiment à chaque pas de temps. Ce taux de décroissance est modulé par des lois d'action traduisant l'influence de différents paramètres environnementaux parmi lesquels la température, l'humidité, ou la texture du sol (voir figure 9). Les MOS les plus fraîches sont ainsi transformées et sont de ce fait transférées dans des compartiments de MOS humifiées (voir figure 8).

Les compartiments de MOS humifiées, appelées encore les MOS stabilisées, passives, récalcitrantes voire inertes ont quant à eux des taux de décroissance plus lents et leur taille (ainsi que leur âge) varie beaucoup selon les modèles. De plus, si la plupart des modèles compartimentent la MOS en deux à trois compartiments, certains de ces modèles comportent jusqu'à 8 compartiments (Falloon et Smith 2000). Il est également notable que malgré plusieurs décennies d'efforts, il n'existe pas de relations précises entre propriétés physico-chimiques des MOS et leur temps de résidence. En conséquence, si des compartiments cinétiques ont dû être introduits dans les modélisations pour reproduire la dynamique du carbone du sol, les caractéristiques physico-chimiques de ces compartiments n'ont jusqu'à présent jamais pu être déterminées.

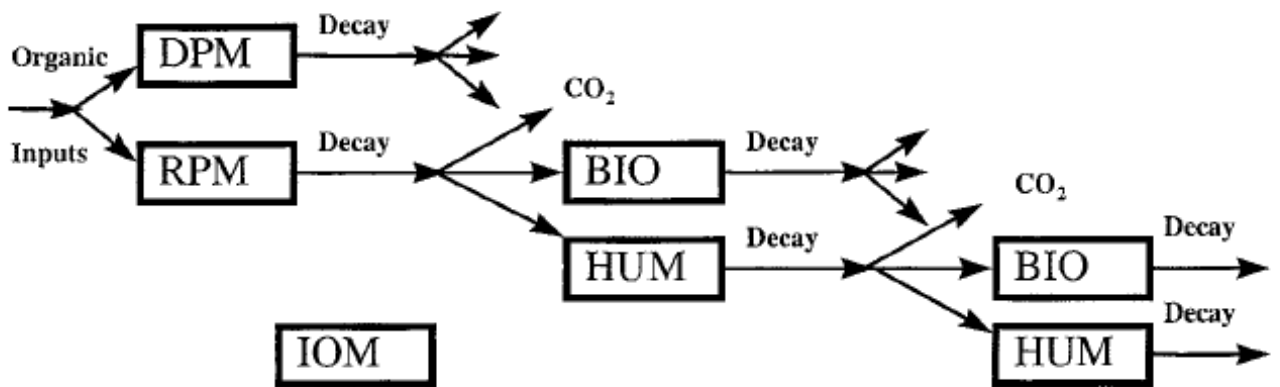


Figure 8 : Flux de carbone tel qu'ils sont modélisés dans le modèle Rothamsted C (RothC).

Source : [Coleman et Jenkinson, 1996]

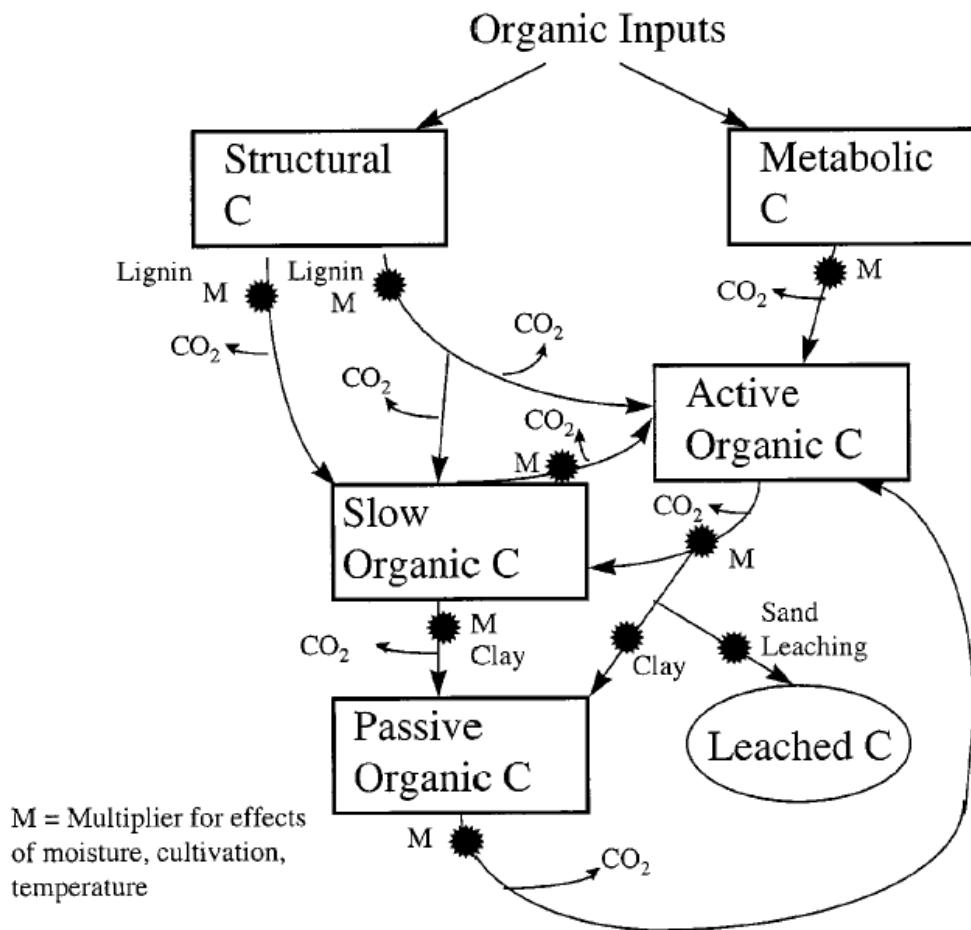


Figure 9 : Flux de carbone tel qu'ils sont modélisés dans le modèle Century.

Source : [Parton et al., 1987]

II) Méthodes d'étude de la MOS stable à l'échelle pluri-décennale.

Apport des essais de jachère nue de longue durée

La MOS stable a souvent été l'objet de controverses tant sur sa définition ou son temps de résidence que sur sa sensibilité à la température comparée à la MOS labile.

S'il existe aujourd'hui plusieurs méthodes visant à séparer le C stable (voir ci-dessous), chacune comporte ses biais, ses limites et les méthodes permettant d'isoler de manière élégante la fraction stable de la MOS de la fraction labile sont rares.

Parmi les méthodes les plus utilisées on peut citer les attaques chimiques comme l'hydrolyse acide ou l'oxydation au dichromate de potassium ou à peroxyde d'hydrogène, les transitions de végétation C3/C4, les comparaisons entre horizons de surface et horizons de profondeur, ou les incubations de longue durée.

Les attaques chimiques comme l'hydrolyse acide (e.g. Plante et al., 2010), l'oxydation au dichromate de potassium (e.g. Naisse et al., 2013) ou au peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et à l'hypochlorite de sodium (NaOCl) (e.g. Lutfalla et al., 2014) ont pour objectif de simuler la dégradation naturelle et biologique de la MOS par les enzymes contenues dans la solution du sol. Cependant on peut douter de la représentativité des réactions que ces attaques chimiques catalysent par rapport aux réactions chimiques réalisées par les décomposeurs naturels de la MOS. Des analyses de datation au ¹⁴C des résidus d'hydrolyse ont cependant montré que les hydrolyses acides étaient capables d'isoler une fraction de la MOS plus vieille que la MOS totale (Paul et al., 1997). Ainsi une revue de la littérature de Paul et al., (2006) montre qu'en moyenne le résidu d'hydrolyse plus vieux d'environ 1200 ans que le carbone organique moyen (Paul et al., 2006). La taille de la fraction résistante est affectée par les changements de mode d'occupation du sol et par la profondeur d'échantillonnage (Paul et al., 2006). La fraction de la MOS résistante aux oxydations par le NaOCl et l'H₂O₂ est plus vieille de 75-3900 ans (Eusterhues et al., 2005; Kleber et al., 2005). Cependant ces méthodes d'oxydation n'isolent pas un compartiment résistant à la décomposition à l'échelle pluri-décennale (Lutfalla et al., 2014) et ne fonctionnent pas quand le processus dominant de stabilisation est l'enrichissement en composés aliphatiques (Eusterhues et al., 2005).

Les transitions C3/C4 correspondent quant à elles à des essais au champ, ou situations naturelles consistant en un changement passé et connu d'une végétation à métabolisme C3 (Cycle de Calvin) vers une végétation à métabolisme en C4 (Cycle Hatch-Slack) ou l'inverse.

Ces successions permettent de mesurer la dynamique du C du sol à l'échelle pluriannuelle en exploitant des variations d'abondance naturelle en carbone 13. En effet, lors de la photosynthèse la composition isotopique des composés carbonés produits par les plantes en C3 diffère de celle des composés carbonés produits par les plantes en C4. En abondance naturelle la composition isotopique en carbone 13 d'un composé ou d'un mélange de composés est exprimée par différence contre une référence, le Vienna Pee Dee Belemnite. Son expression est donnée selon la relation 1 :

$$\delta^{13}\text{C} \text{ (pour mille)} = \left[\left(\frac{^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{\text{échantillon}}}{^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{\text{standard}}} - 1 \right) \right] \times 1000 \quad (1)$$

Les plantes à métabolisme en C3 produisent des composés carbonés dont la signature isotopique se situe entre -22 et -32 pour mille environ avec une valeur moyenne à -27 pour mille environ. Les plantes à métabolisme en C4 produisent quant à elles des composés carbonés dont la signature isotopique se situe entre -9 et -17 pour mille environ avec une valeur moyenne à -13 pour mille environ. De ce fait, lors du changement de l'occupation d'une parcelle d'une plante en C3 à une plante en C4 par exemple de la litière relativement riche en carbone 13 est incorporée à une matière organique du sol relativement pauvre en carbone 13 et héritée de l'ancienne culture en C3. Le suivi de l'enrichissement progressif en carbone 13 dans le sol permet d'estimer la proportion décroissante de carbone organique du sol héritée de la culture en C3 et la proportion croissante de carbone organique issue de l'entrée de litière issue de la plante en C4 (voir figure 10).

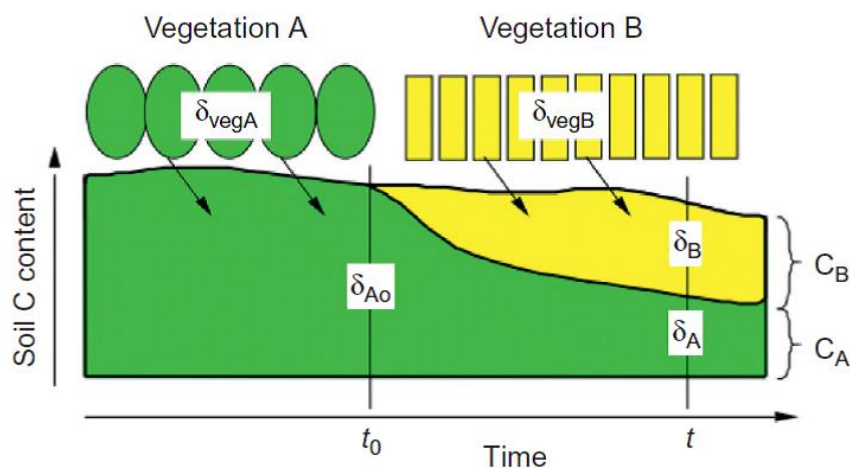


Figure 10 : Principe de la mesure du renouvellement de la MOS grâce à l'abondance naturelle en ^{13}C .

Source : [Balesdent et Mariotti, 1996]

A un temps donné :

Le contenu en carbone C du sol est exprimé par : $C = C_A + C_B$

La composition isotopique de la MOS est exprimée par : $\delta (C_A + C_B) = \delta_A C_A + \delta_B C_B$

La fraction F de la MOS issue de la nouvelle culture (sous certaines hypothèses) :

$$F = C_B / C = (\delta - \delta_A) / (\delta - \delta_B)$$

En utilisant une transition C4/C3 vieille de plus d'un siècle suite à la mise en culture de sols des grandes prairies américaines, Balesdent et al. ont montré qu'une fraction de la MOS a un temps de renouvellement de l'ordre du millénaire (Balesdent et al., 1988). Cette technique a pour avantage par rapport aux méthodes chimiques citées ci-dessus de ne pas détruire l'échantillon de sol. Néanmoins si la quantification et le taux de renouvellement d'un compartiment stable de la MOS est possible, cette technique ne permet pas d'isoler physiquement ce compartiment stable et d'étudier les propriétés qui expliqueraient son temps de renouvellement.

Une autre technique basée sur l'étude des isotopes du carbone est la datation de la MOS au carbone 14 (^{14}C). Le ^{14}C est un isotope radioactif du carbone produit dans les hautes couches de l'atmosphère sous l'action des rayonnements cosmiques incidents. Cette production et la consommation par la végétation, les océans, le sol ou les sédiments mènent à un équilibre de la concentration en ^{14}C dans l'atmosphère. Les organismes vivants sont quant à eux à l'équilibre avec la teneur en ^{14}C de l'atmosphère et à leur mort ils perdent progressivement le ^{14}C accumulé dans leurs tissus. La vitesse de décroissance du ^{14}C est connue : la demi-vie du ^{14}C est de 5730 ans ce qui implique qu'à l'issue de cette période une moitié de la radioactivité est perdue. De par sa résolution, cette technique permet donc d'étudier des MOS dont l'âge est de l'ordre de quelques siècles à environ 40 000 ans (la MOS ne contient plus alors plus que des traces de ^{14}C). En revanche, il existe trois limites à cette technique. D'abord, depuis les années 1950 les activités anthropiques ont fortement modifié la teneur atmosphérique en ^{14}C , d'abord en l'accroissant via les essais nucléaires puis en l'abaissant par la combustion de carbone fossile dépourvu de ^{14}C et l'injection de ce carbone dans l'atmosphère. Il est donc difficile de définir un standard contre lequel on peut comparer la MOS. D'autre part, la datation au ^{14}C donne l'âge moyen de la MOS totale ou de la MO de la fraction analysée et non celui d'un compartiment cinétique. Enfin, un âge élevé de la MOS n'atteste pas nécessairement de sa stabilité. Ceci peut être illustré par le fait que dès l'incorporation dans le sol du carbone d'un tronc d'arbre millénaire la MOS qui résulte de sa dégradation aura un âge

moyen millénaire. Les microorganismes biodégradant ce bois seront faits de carbone millénaire également, comme discuté par Kramer et Gleixner (2008).

Enfin, les incubations de longue durée au laboratoire permettent le suivi de l'évolution de la vitesse de minéralisation de la MOS avec le temps. Lors d'incubations de longue durée l'hypothèse la plus courante est que les composés les plus biodégradables sont minéralisés en début d'incubation et que plus cette dernière se prolonge moins les composés minéralisés sont biodégradables. Une comparaison des cinétiques de minéralisation entre le début et la fin de l'incubation permet donc une comparaison entre des composés de dynamiques contrastées dans le sol. Néanmoins, même en conditions contrôlées et optimales, les incubations permettent difficilement d'étudier la MOS dont le temps de résidence moyen dans le sol est supérieur à quelques années. Cette méthode paraît peu appropriée pour l'étude du C stable pendant plusieurs décennies dans le sol.

Les limites importantes des méthodes citées précédemment pour isoler la MOS ayant des temps de résidence élevés mettent en exergue l'intérêt particulier des échantillons issus d'essais de jachère nue de longue durée utilisés dans mon travail. Les essais de jachères nues de longue durée consistent en des essais au champ sur lesquels plus aucune végétation ne pousse et pour certaines modalités, dans lesquels aucun amendement organique n'est apporté. De fait, les entrées de C dans le sol peuvent être considérées comme nulles ou du moins négligeables, tandis que les sorties de C via la respiration hétérotrophe se poursuivent. On comprend donc que la teneur en carbone organique du sol décroît au cours du temps. L'avantage de ces essais est que, grâce à l'hétérogénéité de la MOS quant à sa biodégradabilité, les composés les plus biodégradables sont minéralisés en premier et que, donc, le sol s'enrichit progressivement (en terme relatif) en composés organiques stables (Figure 11). Barré et al. ont répertorié 6 essais de jachère nue de longue durée en Europe (Barré et al., 1010).

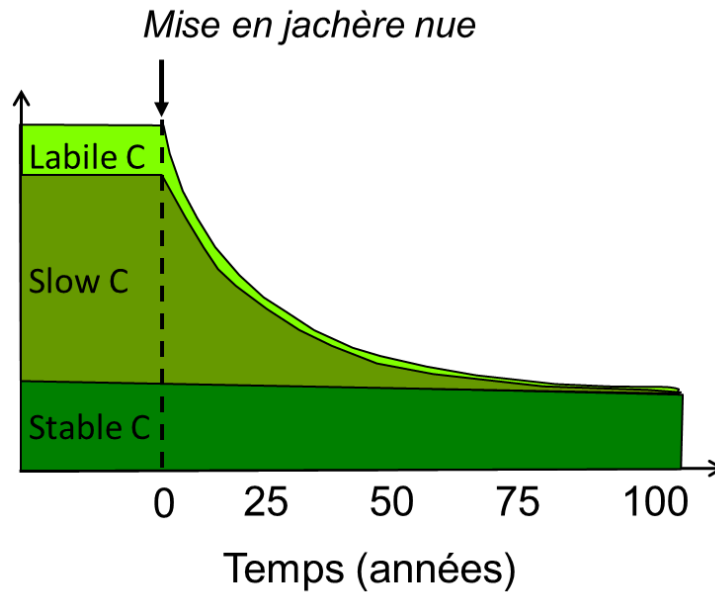


Figure 11 : Schéma de la cinétique de décroissance théorique de la taille des compartiments du carbone organique du sol après la mise en place d'un essai de jachère nue de longue durée.

Source : [Crédits : Claire Chenu]

Les essais de jachère nue de longue durée permettent donc d'isoler, ou du moins d'enrichir relativement la matière organique du sol en une fraction plus stable à condition (i) de maintenir correctement les essais par un désherbage régulier pendant plusieurs décennies et (ii) de prélever et de stocker régulièrement des échantillons en début d'essai et pendant l'essai pour pouvoir les comparer entre eux et suivre une cinétique de perte de C. Des jachères nues ont déjà été utilisées dans la littérature avec cet objectif, mais souvent avec des jachères nue d'une durée inférieure à la vingtaine d'années (e.g. Ruhlman, 1999 ; Kiem et al., 2000 ; Kiem et al., 2002a ; Kiem et al., 2002b ; Kiem et al., 2003 ; Wagai et al., 2013) donc trop courte pour enrichir le C du sol en C pluri-décennal et plus récemment en se basant sur une jachère nue de plus du 70 ans située à Versailles (e.g. Plante et al., 2004, 2005, Balabane et Plante, 2004, Barré et al., 2010, Guenet et al., 2011, 2012).

A ce jour des travaux utilisant l'essai de jachère nue de longue durée de Versailles ont permis de quantifier et modéliser la cinétique de décroissance du C du sol (Barré et al., 2010).

Certains de ces travaux ont également montré que l'oxydation à H_2O_2 (Plante et al., 2004) et l'oxydation au NaOCl (Lutfalla et al., 2014) ne permettaient pas d'isoler une MO enrichie en C stable à l'échelle pluri-décennale.

Il ressort également de ces études que les MO résiduelles ont un comportement thermique différent, et sont moins thermolabiles que les MO d'un sol cultivé adjacent (Plante et al., 2005), que ces MOS résiduelles ne sont pas enrichies en lipides (Grasset et al., 2009), qu'elles ne contiennent pas de MOP et sont relativement enrichies en C associé aux argiles (Vasilyeva et al., In prep). On observe également un appauvrissement de l'N organique des sols en acides aminés extractibles après une hydrolyse acide et un changement dans la proportion respective des différents acides aminés (Bol et al., 2004)

Toujours en utilisant cet essai, Balabane et Plante (2004) ont montré que la localisation des MO dans des macroagrégats ne suffit pas à expliquer leur préservation à l'échelle pluri-décennale et que cette préservation pluri-décennale implique donc d'autres mécanismes. Enfin, cet essai a permis de montrer qu'une part du C du sol présent après 79 ans de jachère nue peut être déstabilisé et biodégradé en apportant une source de C facilement décomposable (Guenet et al., 2012) de même que les microorganismes du sol qui décomposent la MOS sont moins abondants, mais gardent des potentialités métaboliques proches de celles d'un sol cultivé (Guenet et al., 2011)

Dans le cadre de cette thèse, c'est l'approche utilisant des essais de jachère nue de longue durée qui a été utilisée pour étudier le carbone organique stable. Dans la suite de ce manuscrit les échantillons relativement riches en carbone organique et prélevés en début de chaque essai seront désignés comme des échantillons « initiaux » tandis que les échantillons appauvris en carbone total (mais riches en C stable) et prélevés après plusieurs décennies de traitement seront désignés comme des échantillons « finaux ».

III) La sensibilité à la température de la minéralisation de la MOS

1) Définition

Conant et al., définissent la sensibilité à la température comme le rapport entre la vitesse d'un processus (i.e. décomposition, dé-sorption, etc...) à une température donnée et la vitesse de ce même processus à une température de référence (Conant et al., 2011). La sensibilité à la température de la minéralisation de la MOS se définit communément comme la facilité avec

laquelle la réaction de minéralisation de la MOS (estimée par les émissions de CO₂) est stimulée par unité d'augmentation de la température de l'air.

La sensibilité à la température peut être exprimée en terme absolu comme en terme relatif. C'est un paramètre clé qui permet de prévoir le rôle de puit ou de source de carbone qu'auront les écosystèmes dans un climat globalement plus chaud dans la mesure où la sensibilité à la température de la MOS influe significativement sur l'évolution du stock de C des sols.

2) Les estimateurs de la sensibilité à la température

Les estimateurs de la sensibilité à la température sont nombreux dans la littérature (voir tableau 1) ce qui crée une certaine confusion dans la littérature et a conduit à des résultats jugés à priori contradictoires (Sierra, 2012).

La première source de confusion vient d'abord du fait que certains estimateurs traduisent de la sensibilité à la température en termes relatifs quand d'autres traduisent une sensibilité à la température en terme absolue.

Certaines études sont basées sur des comparaisons de l'évolution de la constante réactionnelle k avec la température. D'autres études utilisent quant à elles un ratio de deux constantes réactionnelles à différentes températures, on peut par exemple citer le Q_{10} . Cet indice pose souvent problème lors de la comparaison des résultats provenant d'études différentes. En effet, la sensibilité à la température n'étant pas linéaire avec la température (il est régulièrement observé de fortes sensibilités à la température aux températures basses et inversement) les valeurs de Q_{10} dépendent donc fortement des gammes de températures étudiées ainsi que de l'importance des écarts entre les températures d'études extrêmes. Une critique formulée à l'encontre du Q_{10} est que celui-ci ne repose pas sur des considérations mécanistes. Cet indice est également exprimé de façon très variable dans la littérature (voir tableau 2) rendant les comparaisons entre études difficiles.

D'autres auteurs comparent l'évolution de la respiration spécifique, c'est-à-dire normalisée par la biomasse microbienne. Cette normalisation induit un nivellement des différences des vitesses de minéralisation entre des substrats dits de bonne et de mauvaise qualité dans la

mesure où la biomasse microbienne est généralement plus élevée dans le cas de sols riches en substrats labiles.

Enfin, certains auteurs utilisent l'énergie d'activation issue de la théorie cinétique et fréquemment utilisée dans des disciplines comme l'enzymologie. Néanmoins, si l'énergie d'activation semble plus appropriée à expliquer de façon mécaniste la sensibilité à la température d'une réaction chimique, il convient de constater qu'il est encore difficile d'expliquer des variations d'énergie d'activation dans le cas de la minéralisation de la MOS.

| Mesure de la sensibilité | Etude |
|--|--|
| Constante réactionnelle, k | Liski et al., (1999) Boddy et al., (2008) Mellilo et al., (2002) Giardina et Ryan, (2000) Bol et al., (2003) |
| Temps de renouvellement, τ | Townsend et al., (1995) Trumbore et al., (1996) |
| Vitesse de respiration normalisée par la biomasse microbienne, R | Bradford et al., (2008) |
| Q_{10} | Fang et al. (2005) Conant et al., (2008a ; 2008b) Hartley et Ineson (2008) Leifeld et Fuhrer (2005) Reichstein et al., (2005) Luo et al., (2001) |
| Energie d'activation, E | Craine et al., (2010) |

Tableau 1: Estimateurs de la sensibilité à la température de la minéralisation de la matière organique du sol retrouvés dans la littérature.

| Etude | Expression du Q_{10} | Signification des termes |
|----------------------------|--|--|
| Fang et al., (2005) | $Q_{10} = (R/a)^{(10/T)}$ | a : coefficient empirique |
| Fierer et al., (2005) | $Q_{10} = \exp^{(10/T_i \ln(R_i/B))}$ | B : coefficient empirique |
| Leifeld et Fuhrer (2005) | $Q_{10} = (R_1/R_2)^{(10/(T_1-T_2))}$ | Ri : Vitesse de respiration à la température Ti |
| Hartley et Ineson (2008) | $Q_{10} = (R / (kC))^{10/(T-T_{ref})}$ | Tref : temperature de référence |
| Conant et al., (2008a) | $Q_{10} = (t_f/t_c)^{10/(T_c-T_f)}$ | tc, tf : temps requis pour respirer une certaine quantité de C aux températures chaude Tc et froide Tf |
| Wetterstedt et al., (2010) | $Q_{10} = R_{T+10} / R_T$ | |

Tableau 2: Exemples des différentes expressions du Q_{10} retrouvées dans la littérature.

3) Une propriété de la MOS débattue depuis longtemps

Il y a déjà deux décennies, Kirschbaum résumait les incertitudes qui entouraient la dynamique du carbone organique du sol et son devenir dans un environnement plus chaud (Kirschbaum, 1995). Récemment encore Conant et al., admettaient que la relation entre la décomposabilité de la MOS et la réponse de la constante de vitesse de la MOS à la température n'était pas résolue (Conant et al., 2011).

L'une des raisons qui puisse expliquer que le débat persiste est que la MOS n'est pas un compartiment biochimiquement ou cinétiquement homogène (Knorr et al., 2005). Les méthodes proposées afin de comparer des MOS de natures biochimiques et cinétiques contrastées sont nombreuses mais controversées. C'est d'ailleurs en partie la diversité des méthodes proposées ainsi que la difficulté pour comparer ces méthodes entre elles qui a fait

naître le plus d'incertitudes sur la question de la sensibilité à la température de la minéralisation de la MOS.

On dénombre trois approches principales pour l'étude de la sensibilité à la température de la MOS : les incubations de longue durée, les essais au champ et les comparaisons multi-sites.

- Lors d'incubations, et quand l'influence de la matrice minérale est limitée (lorsque des litières ou des fractions de décomposabilités variables sont isolées), les réactions biochimiques dont les vitesses sont les plus lentes tendent à montrer une plus grande réponse à la température. En revanche, lors d'incubations où la disponibilité du substrat a un impact important sur la vitesse de décomposition l'effet de la température sur la vitesse de décomposition est plus incertain (Conant et al., 2011).
- Les études multi-sites ont quant à elles étudié la réponse à la température de la MOS venant de sites dont la température annuelle moyenne est très variable. Ces études ont eu pour objectif de comparer l'âge de la MOS entre ces différents sites arguant que si la fraction lente de la MOS est plus sensible à la température, alors les sols des régions chaudes devraient être relativement appauvris en C qui se décompose lentement et inversement pour les régions froides.
- Les études au champ qui impliquent de chauffer localement le sol. Ces essais sont toutefois controversés, car ils induisent des changements de productivité primaire de la végétation qui influencent les stocks de MOS, la respiration des racines, etc...

On comprend donc que selon l'approche utilisée la taille du compartiment carboné comme les mécanismes susceptibles de ralentir sa minéralisation (récalcitrance, adsorption, etc...) diffèrent et peuvent expliquer des conclusions divergentes.

IV) Les microorganismes du sol

1) Abondance, diversité, fonctions

Le sol est un énorme réservoir de biodiversité. On y retrouve des organismes appartenant à tous les règnes: animaux, végétaux, champignons, protistes, bactéries et archées. Ainsi le sol

abrèterait plus d'un quart des espèces animales et végétales décrites (Decaens et al., 2006) et ce malgré le fait que la biodiversité du sol soit mal connue au point que le sol soit régulièrement qualifiée de « troisième frontière biotique » après les profondeurs océaniques et la canopée des forêts tropicales (Benito et al., 2010).

La biodiversité microbienne est quant à elle encore bien moins connue que celle des végétaux ou des animaux puisqu'environ 10 000 espèces de bactéries et 70 000 espèces de champignons ont été décrites et qu'il pourrait en exister plus de 2 millions (Benito et al., 2010). La biomasse que les microorganismes du sol représentent est également remarquable puisque dans un gramme de sol on dénombre en général 10^8 - 10^9 cellules bactériennes et 10^4 - 10^6 cellules fongiques (Chaussod, 1996; Girard et al., 2005).

2) L'activité des communautés microbienne – facteurs de régulation

La quantité et la biodégradabilité du carbone organique

Rappelons tout d'abord que le carbone organique est la base du réseau trophique du sol. Il est donc logique de penser que l'abondance du carbone ainsi que la facilité avec laquelle ce carbone peut être dégradé et utilisé par les microorganismes pourra avoir un impact certain sur ces derniers.

Lors d'expériences visant à étudier l'impact d'un amendement organique au sol sur les microorganismes les auteurs ont noté une augmentation significative de la biomasse microbienne totale lors d'un apport en fumier (Elstrand et al., 2007), de compost et de boues (Bastida et al., 2008) ou de paille (Aciego Pietri et Brookes, 2009).

Les amendements organiques ont en général également un effet positif sur la biomasse bactérienne (Elstrand et al., 2007) et fongique (Griffiths et al., 1999 ; Elstrand et al., 2007) même si Feng et Simpson (2009) ont noté que le ratio champignons/bactéries augmente lors de la déplétion en carbone du milieu (Feng et Simpson, 2009). Les champignons semblent même être favorisés si la teneur en carbone résistant aux attaques acides augmente (Gul et al., 2012), si la litière est de faible qualité (Lauber et al., 2008), ou si le carbone organique est vieux (Waldrop et Firestone, 2004).

Chez les bactéries, il est régulièrement rapporté que les bactéries Gram négatives sont favorisées par une teneur en carbone organique du sol élevée ou par les apports d'amendements organiques (Griffiths et al., 1999 ; Fierer et al., 2003 ; Potthoff et al., 2006) ou par le carbone jeune (Kramer et Gleixner, 2008). A l'inverse, les bactéries Gram positives prolifèrent lorsque le carbone est âgé (Kramer et Gleixner, 2008), lorsque le sol est appauvri en carbone (Buyer et al., 2010) ou lorsque l'amendement au sol est constitué de carbone faiblement appétant comme celui de composts matures ou des boues (Bastida et al., 2008). Enfin, d'autres groupes comme les Actinomycètes et les Protéobactéries semblent être favorisés par le carbone organique, notamment par les substrats de faible poids moléculaires comme les acides carboxyliques, les acides aminés ou les sucres simples (Eilers et al., 2010).

La température

Dans le cadre du changement climatique, et dans la mesure où les microorganismes du sol sont des acteurs majeurs du fonctionnement biogéochimique du sol, de nombreuses études ont porté sur l'impact potentiel de la température sur les communautés microbiennes du sol. Beaucoup de ces études ont porté leur attention sur l'évolution de la biomasse microbienne totale. Alors que certains auteurs n'ont constaté aucun impact significatif sur la biomasse microbienne d'une augmentation artificielle de la température du sol de quelques degrés (Zhang et al., 2005; Schindlbacher et al., 2011) ou de variations de la température observées en comparant des sols provenant d'un gradient latitudinal (Wu et al., 2009), d'autres auteurs constatent que la biomasse microbienne totale a tendance à diminuer quand la température augmente (Zogg et al., 1997 ; Fierer et al., 2003; Rinnan et al., 2007 ; Frey et al., 2008 ; Cooper et al., 2011). Zogg et al., suggèrent que le déclin de la biomasse puisse être attribué à un stress (Zogg et al., 1997) et plus particulièrement à un épuisement accéléré du carbone facilement assimilable (Frey et al., 2008), ou encore à une baisse de l'humidité du sol (Rinnan et al., 2007).

Plus en détail, si un effet de la température sur la biomasse bactérienne n'est que peu rapporté, (Zhang et al., (2005) ont tout de même constaté une baisse de la biomasse bactérienne suite à une augmentation de la température de 2°C), il est toutefois nettement plus fréquent de constater un impact de la température sur la biomasse fongique. Néanmoins, il n'y a pas de consensus sur cet effet. Si certains auteurs notent une baisse significative des marqueurs

fongiques totaux (Rinnan et al., 2007 ; Frey et al., 2008), la richesse et l'équitabilité des communautés de champignons (Cooper et al., 2011) ou de l'abondance des champignons ectomycorhiziens (Budge et al., 2011), d'autres études montrent quant à elles une augmentation des marqueurs fongiques (Zhang et al., 2005) et de l'abondance des champignons arbusculaires (Budge et al., 2011).

Même au sein d'un règne comme celui des bactéries les réponses à la température diffèrent. Ainsi, certains auteurs ont rapporté que les bactéries Gram positives ont une tendance à proliférer lors d'une augmentation de la température (Frey et al., 2008 ; Feng et Simpson, 2009; Buyer et al., 2010). Ces bactéries pourraient peut-être bénéficier de la mortalité accrue des bactéries Gram négatives qui ont quant à elles tendance à voir leur population réduire quand la température augmente (Zogg et al., 1997 ; Wu et al., 2009). La température pourrait également augmenter l'abondance des Actinomycètes (Frey et al., 2008 ; Deslippe et al., 2012) et diminuer l'abondance des Gemmatimonadetes et des Proteobacteries (Deslippe et al., 2012).

Enfin, les altérations potentielles que la température peut provoquer sur la structure des communautés microbiennes pourraient altérer le fonctionnement des cycles de nutriments (Deslippe et al., 2012) via notamment l'altération des capacités métaboliques des microorganismes (Zhang et al., 2005) ou l'efficacité de l'utilisation du carbone (Zogg et al., 1997).

Le pH

Le pH a également été identifié comme l'un des facteurs structurant les communautés microbiennes du sol. Le pH serait même le facteur le plus structurant selon certaines études (Fierer et Jackson, 2006 ; Wu et al., 2009).

Néanmoins, si le pH structure les communautés microbiennes ses effets ne sont pas toujours clairs. Si Fierer et Jackson (2006) notent que la richesse et la diversité microbiennes sont fortement corrélées au pH et qu'elle atteint un optimum vers des pH neutres, Rousk et al., ne notent pas d'effet significatif du pH sur la biomasse quand celle-ci est estimée par les acides gras phospholipidiques (PLFAs) (Rousk et al., 2010). D'autres auteurs précisent également

que si les pH élevés ont un effet positif sur la biomasse, cet effet est linéaire (Budge et al., 2011) et se poursuit même pour des pH très alcalins (Baath et Anderson, 2003). De plus, cette corrélation positive entre le pH et la biomasse n'est pas universelle. Ainsi, de nombreux PLFAs (e.g. cy 19:0, i15:0, i16:0) se raréfient quand le pH augmente (Baath et Anderson, 2003).

Au sein des champignons les effets du pH sont très variables. En effet, si Baath et Anderson (2003) notent que les pH élevés favorisent les champignons totaux et notamment les champignons arbusculaires et diminuent le ratio bactéries/champignons (Baath et Anderson, 2003) d'autres auteurs notent que le ratio bactéries/champignons est plus élevé pour des pH acides (Blagodatskaya et Anderson, 1998 ; Aciego Pietri et Brookes, 2009).

Les effets du pH sont également incertains pour les bactéries. Il est en effet régulièrement reporté que les bactéries Gram négatives sont favorisés par des pH alcalins (Rousk et al., 2010 ; Wu et al., 2009) ou acides (Baath et Anderson, 2003; Aciego Pietri et Brookes, 2009) et que les bactéries Gram positives préfèrent des pH acides (Baath et Anderson, 2003) ou alcalins (Aciego Pietri et Brookes, 2009). Cela peut être expliqué par le fait que les communautés microbiennes analysées dans ces études différaient à cause d'autres facteurs en terme de composition en différents phyla bactériens. On sait par exemple que les Acidobactéries se développent aux pH acides tandis que les Protéobactéries préfèrent les pH alcalins (Lauber et al., 2008).

La texture du sol

La texture, et par extension l'abondance des différentes fractions minérales du sol, influencent également la structure des communautés microbiennes. Johnson et al. ont rapporté des effets de la texture, et notamment de la teneur en sables et en argiles (dont les effets structurants sont antagonistes), sur la structure des communautés bactériennes (Johnson *et al.* 2003). Wu et al., (2009) notent également que l'abondance des bactéries Gram négatives est corrélée négativement avec le taux d'argiles tandis que les ratio cy:pre, i:a, et sat:mono indicateurs de l'état de stress des microorganismes ainsi que la biomasse normalisée par la teneur en carbone étaient corrélées positivement par le taux d'argiles (Wu et al., 2009).

De même, les oxydes de fer et d'aluminium peuvent avoir un impact négatif sur les bactéries Gram négatives et positif sur les bactéries Gram positives, les ratio cy:pre, i:a, et sat:mono ainsi que la biomasse normalisée par la teneur en carbone (Wu et al., 2009)

Toutefois, l'effet de la texture ne fait pas consensus puisque Gul et al. ne notent quant à eux pas d'effet significatif de la texture sur la structure des communautés microbienne du sol en incubation (Gul et al., 2012).

On notera qu'en toute rigueur, il est nécessaire de prendre en compte certains facteurs confondants (humidité, gaz dissous, pH,...) lors de l'étude de l'impact de la texture sur les microorganismes du sol.

L'humidité du sol

L'humidité du sol est également un facteur déterminant pour les microorganismes comme pour tout être vivant. L'humidité va réguler, en plus du stress hydrique, le transport des ions, du carbone ou de l'azote soluble en encore les flux de gaz comme le dioxygène.

Wu et al., ont déjà montré une corrélation de l'abondance des bactéries Gram positives et négatives et de la biomasse microbienne normalisée par la teneur en carbone avec la capacité de rétention en eau du sol, ainsi qu'une corrélation entre les bactéries Gram négatives et des champignons avec les précipitations (Wu et al., 2009).

Williams et Rice (2007), en maintenant certains de leurs sols continuellement humides ont montré que les marqueurs fongiques ainsi que l'utilisation de substrats organiques étaient significativement stimulés par rapport à un sol témoin qui subissait d'importantes variations de teneur en eau (Williams et Rice, 2007).

Néanmoins, lors d'un essai au champ sur deux ans Buyer et al., montrent que les différences d'humidité du sol induites par leur différentes couvertures de la surface du sol (par des litières ou des bâches en plastiques) ne conduisent pas à un effet structurant majeur des communautés (Buyer et al., 2010).

V) Problématique et plan de la thèse

Cette introduction générale souligne un certain manque de connaissance concernant le C des sols qui a des temps de résidence d'au moins plusieurs décennies. Dans ce travail, nous nommerons ce carbone, carbone stable des sols. Ainsi, ses caractéristiques, sa sensibilité à la température ou les communautés microbiennes capables de le dégrader restent très mal connues. Mon travail de thèse vise à combler en partie ce manque de connaissance grâce à l'utilisation des échantillons uniques et pertinents pour s'attaquer à l'étude du C stable du sol que sont les échantillons issus de jachères nues de longue durée. Dans un premier chapitre, j'ai étudié la relation entre la vitesse de décomposition de la MOS et sa sensibilité à la température. Dans le second chapitre, je me suis intéressé à la sensibilité à la température des communautés microbiennes liées à la MOS stable. Enfin, dans le troisième chapitre je me suis intéressé à la relation supposée entre l'âge et la stabilité de la MOS. Une dernière partie de ce manuscrit sera consacrée aux conclusions générales et perspectives de mon travail. Ce travail a été réalisé en collaboration avec plusieurs équipes en France et à l'étranger.

Dans le cadre de cette thèse nous nous sommes attachés à caractériser l'âge de la MOS stable, à décrire des mécanismes de stabilisation de la MOS et à étudier l'effet de perturbations environnementales sur le devenir de la MOS stable.

Ce travail a fait l'objet de plusieurs collaborations :

- Il a été mené dans le cadre des activités du Long Term Bare Fallow network groupe informel créé en 2008, qui associe les responsables de jachères nues de longue durée de Versailles, France (Folkert van Oort), Grignon, France (Sabine Houot), Ultuna, Suède (Thomas Kätterer) et Askov, Danemark (Bent T. Christensen),
- Il a également été réalisé avec Pierre-Alain Maron, Samuel Dequiedt et Sébastien Terrat de la plateforme Genosol (Dijon, France) pour les analyses microbiologiques,
- Il a fait l'objet d'une collaboration avec Marion Schrumpf et Susan E. Trumbore du département Processus du Max Planck Institute pour la biogéochimie (Jena, Allemagne) et avec Fernando E. Moyano du laboratoire des Sciences du Climat et de l'Environnement (LSCE, Gif-sur-yvette, France).

Chapitre 1: Sensibilité à la température comparée de la minéralisation de la MOS stable et non stable.

Lefèvre, R., Barré, P., Moyano, F.E., Christensen, B.T., Bardoux, G., Eglin, T., Girardin, C., Houot, S., Kätterer, T., van Oort, F., Chenu, C. (2014) Higher temperature sensitivity for stable than for labile soil organic carbon – Evidence from incubations of long-term bare fallow soils. *Global Change Biology* 20, 633-640.

Romain Lefèvre ^a, Pierre Barré ^b, Fernando E. Moyano ^a, Bent T. Christensen ^c, Gérard Bardoux ^a, Thomas Eglin ^d, Cyril Girardin ^a, Sabine Houot ^e, Thomas Kätterer ^f, Folkert van Oort ^g, Claire Chenu ^a

^a Bioemco laboratory, UPMC, CNRS, INRA, AgroParisTech, Campus Grignon, Thiverval-Grignon 78850, France,

^b Laboratoire de Géologie, CNRS-ENS, 24 rue Lhomond, Paris 75005, France,

^c Department of Agroecology, Aarhus University, AU-Foulum, Tjele, DK-8830, Denmark,

^d Direction Productions et Energies Durables – Service Agriculture et Forêt, ADEME, Angers 49000, France,

^e EGC laboratory, UMR INRA-AgroParisTech, Campus Grignon, Thiverval-Grignon 78850, France,

^f Department of Ecology, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala 75007, Sweden,

^g Pessac laboratory, INRA, Versailles 78026, France

Abstract

The impact of climate change on the stability of soil organic carbon (SOC) remains a major source of uncertainty in predicting future changes in atmospheric CO₂ levels. One unsettled issue is whether the mineralization response to temperature depends on SOC mineralization rate. Long-term (>25 years) bare fallow experiments (LTBF) in which the soil is kept free of any vegetation and organic inputs, and their associated archives of soil samples represent a unique research platform to examine this issue as with increasing duration of fallow, the lability of remaining total SOC decreases. We retrieved soils from LTBF experiments situated at Askov (Denmark), Grignon (France), Ultuna (Sweden) and Versailles (France) and sampled at the start of the experiments and after 25, 50, 52, and 79 years of bare fallow, respectively. Soils were incubated at 4, 12, 20 and 35 °C and the evolved CO₂ monitored. The apparent activation energy (E_a) of SOC was then calculated for similar loss of CO₂ at the different temperatures. The E_a was always higher for samples taken at the end of the bare-fallow period, implying a higher temperature sensitivity of stable C than of labile C. Our results provide strong evidence for a general relationship between temperature sensitivity and SOC stability upon which significant improvements in predictive models could be based.

Résumé

L'impact du changement climatique sur la stabilité du carbone organique du sol (COS) reste une source majeure d'incertitude pour la prévision de la concentration en CO₂ atmosphérique future. Une question non résolue réside dans la réponse à la température de la minéralisation dépend de la vitesse de dégradation du COS. Des essais de jachère nue de longue (>25 ans) durée dans lesquels le sol est maintenu sans végétation ni amendements organiques ainsi que leurs collections de sols archivés représentent un outil unique pour l'examen de cette question dans la mesure où la labilité du COS restant au sol décroît avec la durée de jachère. Nous avons utilisé des échantillons provenant d'essai de ce type situés à Askov (Danemark), Grignon (France), Ultuna (Suède) et Versailles (France) prélevés au début de chaque essai et après respectivement 25, 50, 52, et 79 ans de jachère nue. Ces sols ont été incubés à 4, 12, 20 and 35 °C et la respiration sous forme de CO₂ a été suivie. L'énergie d'activation apparente (E_a) du COS a ensuite été calculée pour des quantités égales de dégagée aux différentes températures. E_a était systématiquement plus élevée dans les échantillons prélevés à la fin des essais, impliquant une plus grande sensibilité à la température pour le COS stable que pour le COS labile. Nos résultats ont fourni une preuve solide pour valider une relation générale entre la sensibilité à la température et la stabilité du SOC qui pourrait significativement améliorer les modèles prévisionnistes.

Introduction

The impact of global warming on the stability of soil organic carbon (SOC) remains a major source of uncertainty in predicting future atmospheric CO₂ levels. Soil organic matter stores three times more carbon than the atmosphere (Jobbagy and Jackson, 2000) and even small changes in SOC can have a significant impact on the atmospheric CO₂ concentration (Kirschbaum, 2000; Davidson and Janssens, 2006). In most mathematical models simulating SOC turnover and carbon exchange with the atmosphere, SOC is usually divided into pools to which are ascribed different mineralization rates that reflect different chemical qualities, e.g. CENTURY (Parton et al., 1987) and RothC (Coleman et al., 1996). The various rate constants are modified by soil temperature, reflecting that biological activity relates to temperature. Most models ascribe the same temperature modifying function to all SOC pools (Friedlingstein et al., 2006), implying that the temperature sensitivity of SOC does not depend on SOC quality. This assumption has frequently been challenged (see review by Conant et al., 2011) and at present there is little consensus regarding this crucial issue.

According to enzyme kinetic theory, the higher activation energy of intrinsically chemically recalcitrant organic compounds leads to a higher temperature sensitivity of low quality (stable) than of high quality (labile) substrates (Bosatta and Agren, 1999; Davidson & Janssens, 2006; Sierra et al., 2012). This so-called Carbon-Quality-Temperature (CQT) hypothesis (Bosatta and Agren, 1999) has been tested in soil incubation experiments using a variety of approaches to separate the response of SOC pools with different lability. Leifeld and Fuhrer (2005) found that the mineralization of SOC left after soil hydrolysis was more sensitive to temperature than pre-hydrolysis bulk SOC. Plante et al. (2010) observed that although SOC left after hydrolysis was more temperature sensitive than the original bulk SOC, residual SOC was less sensitive to temperature than particulate organic matter, a fraction usually considered as labile SOC. Assuming SOC lability to decrease with depth in the soil profile, some incubation studies reported similar temperature sensitivity regardless of soil origin (Fang et al., 2005; Reichstein et al., 2005) while other studies showed a higher temperature sensitivity for SOC present in deeper soil horizons (Fierer et al., 2003; Karhu et al., 2010). Other approaches have been based on changes in temperature sensitivity with incubation time, relating changes in temperature sensitivity to a gradual change in SOC quality as the more labile pools of SOC are depleted faster than the stable pools. With this approach the temperature sensitivity of SOC decay is most often found to increase with

incubation time (i.e. with decreasing substrate lability; Conant et al., 2008; Hartley and Ineson, 2008; Haddix et al., 2011). However, one critical shortcoming of most incubation studies is that their duration is short compared to the turnover time of the more stable SOC pools.

Agricultural experiments with soil plots kept free of vegetation and other organic inputs for decades (long-term bare fallow) and their associated archives of soil samples provide a unique alternative approach for studying the temperature sensitivity of SOC. In the course of time, soils under bare fallow are gradually depleted in labile SOC and experience a relative enrichment in SOC with long turnover times. A previous study involving soils sampled in six European long-term agricultural experiments at the start of the bare fallow treatment and after decades of fallow showed substantial changes not only in SOC content but also in SOC quality (Barré et al., 2010). Our incubation study compares the temperature sensitivity of SOC in soil sampled in four of these experiments at the start and after several decades of bare fallow, allowing us to quantify SOC temperature sensitivity in soils that differ only in their inherent content of labile organic matter. It is prospected that SOC in soils sampled early in the bare fallow period show higher mineralization rates and lower temperature sensitivities than SOC in soil sampled after decades of bare fallow.

Material and Methods

Soils

We used soils from four differently sited, long-term bare fallow experiments in which plots have been kept free of vegetation by hand weeding, herbicides or cultivation treatments and without organic amendments for 25 years or more (Table 3). The soils were from the Lermarken site at Askov Experimental Station (ASK), Denmark, the 36-plots experiment in the gardens of the « Château de Grignon » at Grignon (GRI), France, the long-term agronomical experiment located at the Swedish University of Agricultural Sciences at Ultuna in Uppsala (ULT), Sweden, and from the 42-plots experiment at the INRA station in the park of the “Château de Versailles” at Versailles (VER), France. These experiments are described in more detail by Barré et al. (2010). Although carbon inputs were not completely eliminated in bare fallows due to atmospheric deposition, occurrence of blue-green algae as well as

occasional weeds and mosses, these inputs can be considered as negligible at the four studied sites. While particulate organic matter (POM) was observed in soils sampled at the start of bare fallows, POM fragments were not found in soils under sustained bare fallow.

| Site | Askov | Grignon | Ultuna | Versailles |
|---|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Starting Date | 1956 | 1959 | 1956 | 1929 |
| Last Sampling | 1982 | 2007 | 2009 | 2008 |
| Previous land use | Arable | Grassland | Arable | Grassland |
| Mean annual temperature (°C) | 7.8 | 10.7 | 5.5 | 10.7 |
| Sampling Depth (m) | 0 - 0.2 | 0 - 0.25 | 0 - 0.2 | 0 - 0.25 |
| Soil texture (mass % Clay/Silt/Sand) | 7 / 11 / 82 | 30 / 54 / 16 | 36 / 41 / 23 | 17 / 57 / 26 |
| Initial OC content (mg C g soil ⁻¹) | 17.09 (0.40) | 13.53 (0.63) | 15.66 | 20.03 (0.75) |
| Final OC content (mg C g soil ⁻¹) | 11.59 (0.64) | 8.59 (0.17) | 10.55 (0.60) | 6.47 (0.25) |
| Initial N content (mg N g soil ⁻¹) | 1.66 (0.02) | 1.60 (0.05) | 1.67 | 1.97 (0.03) |
| Final N content (mg N g soil ⁻¹) | 1.11 (0.05) | 1.02 (0.01) | 1.02 (0.00) | 0.65 (0.03) |
| Initial C/N ratio | 10.27 (0.15) | 8.44 (0.16) | 9.35 | 10.15 (0.27) |
| Final C/N ratio | 10.47 (0.24) | 8.39 (0.14) | 10.32 (0.45) | 10.05 (0.31) |

Table 3: Selected site characteristics. Numbers in brackets are standard errors.

Soil samples (stored air dry in the dark) collected at an early stage of the bare fallow treatment and after decades of bare fallow were used in the present work. Archived soils from the onset of bare fallow were taken in 1957, 1959, 1956 and 1929 at Askov, Grignon, Ultuna and Versailles, respectively, and labeled “initial samples”. Archived soils subject to decades of bare fallow were taken in 1982, 2007, 2009 and 2008 at Askov, Grignon, Ultuna and Versailles, respectively, and labeled “final samples”. Soil from three replicate plots for each site and each sampling date were retrieved, except for Ultuna where only soil from one replicate was available for initial samples. Samples of 25 g soil were sieved to < 2 mm.

Incubation and respiration measurements

For each soil, a subsample of 5 g was used to determine the amount of water needed to adjust the soil moisture content to $pF=2.5$, initially calibrated using pressure plates. Then five gram subsamples of each soil were added to 120 mL incubation flasks (four replicates), the soil moisture adjusted to $pF=2.5$ with deionised water and the soils pre-incubated at 20°C for two weeks in the dark. The flasks were then sealed and incubated for further 427 days at 4, 12, 20 or 35°C in the dark. Soil respiration was measured after 14, 28, 42, 70, 105, 180, 310 and 427 days of incubation. The concentration of CO₂ in the flask headspace was determined using a Micro-GC (Agilent 3000A and Agilent 490, Santa Clara, USA). After each measurement, the flasks were flushed with moist CO₂-free air and resealed. Soil moisture was checked by weighing to ensure that moisture levels remained above 95% of the initial content. After the two weeks of pre-incubation at 20°C, the CO₂ flush induced by rewetting of the soils had ceased and respiration rates were nearly constant. Preliminary experiments showed that the microbial activity in the soils was rapidly restored once rewetted, even in soils that have been stored dry for several decades. A rapid restoration of microbial activity was also observed by De Nobili et al. (2006) for soils stored dry for more than a century. Hence we added no microbial inoculum to the incubated samples.

SOC decomposability and temperature sensitivity

To compare SOC decomposability in initial and final samples, we determined the fraction of SOC that was respired after 70 days of incubation at 20°C (Fig. 12). To assess the relative temperature sensitivity of SOC in the different soils, we calculated the activation energy (E_a) of mineralized SOC. We first calculated the respiration rate, k (year⁻¹), assuming a single pool of SOC for which decomposition follows a negative exponential function of time. This was achieved by optimizing the respiration rate k in the equation (1).

$$C(t) = C_0 * e^{-k*t} \quad (1)$$

where C_0 is the pre-incubation SOC concentration (mg C kg⁻¹soil) and $C(t)$ is SOC concentration at time t (mg C kg⁻¹soil) calculated from the difference between C_0 and the amount of C respired as CO₂ at time t . This optimization was run using data below an

accumulated respiration threshold of 50 mg CO₂-C kg⁻¹ soil. This threshold corresponds to the maximum respiration value reached over the entire incubation period for samples with the smallest respiration rate (site x treatment x temperature). Selecting a lower or a higher threshold (for samples where it was possible) had no significant effect on the results (data not shown). The mean residence time, *MRT*, was calculated as 1/*k*.

For a given sample, *k* values determined at the four temperature regimes were used to calculate the apparent activation energy (*Ea*; kJ mol⁻¹) using the Arrhenius equation (equation 2).

$$k = A e^{-Ea/RT} \quad (2)$$

where *T* is the temperature in Kelvin, *R* is the gas constant (8.314 J K⁻¹ mol⁻¹) and *A* is the frequency factor (i.e. the theoretical reaction rate constant in the absence of activation energy; Davidson & Janssens, 2006). By taking the logarithm of both sides of the equation, *Ea* was calculated as the slope of the relationship between -1/*RT* and the natural logarithm of *k*. The Arrhenius formalism has the advantage of allowing the temperature sensitivity to vary with temperature (i.e. higher temperature sensitivity for lower temperature), as has been clearly documented in the literature (see review by Hamdi et al., 2013) and in the present study.

To compare our results with those published by Craine et al. (2010), the respiration rate per gram of C at 20°C (*R*₂₀) was calculated for each sample. *R*₂₀ was based on the time needed for a given sample to evolve 50 mg CO₂-C kg⁻¹soil. This quantity of carbon was divided by the corresponding incubation time and subsequently by the sample's initial SOC concentration. It should be noted that Craine et al. (2010) used an experimental set-up and applied data treatment that differ from ours, which results in rates that are not strictly comparable to rates obtained in our study. Consequently, the comparison presented here should be considered approximate. This is discussed further below.

Statistical analysis

Mean values of SOC respired after 70 days from corresponding initial and final samples were compared using a paired Student t-test. For each plot, a linear regression between the natural

logarithm of k measured at 4, 12, 20 and 35°C and $-1/RT$ was performed using the `lm` function in the R software for statistical computing (version 2.15.1). The slope of the regression determined the Ea . For each experimental plot, Ea was calculated for initial and final samples, and mean values of Ea were compared using a paired Student t-test. At Ultuna, where only one replicate was available for the initial sample, the same value of initial sample was used for every final sample. The significance of the relationships between Ea and MRT at 20°C and the decimal logarithms of Ea and of R_{20} were tested using the `lm` function in the R software. All results were considered significant for $P < 0.05$.

Results

SOC mineralization rates/decomposability

Figure 12 shows the fraction of SOC that was mineralized after 70 days at 20°C. SOC mineralization was significantly higher for initial than for final soil samples from Grignon, Ultuna and Versailles, demonstrating that bare fallow at these experimental sites had led to a decrease in the overall decomposability of the remaining SOC. The difference between initial and final samples was not significant for Askov soils. Similar results were obtained when comparing the fractions of SOC mineralized after 28, 180 and 427 days of incubation (data not shown).

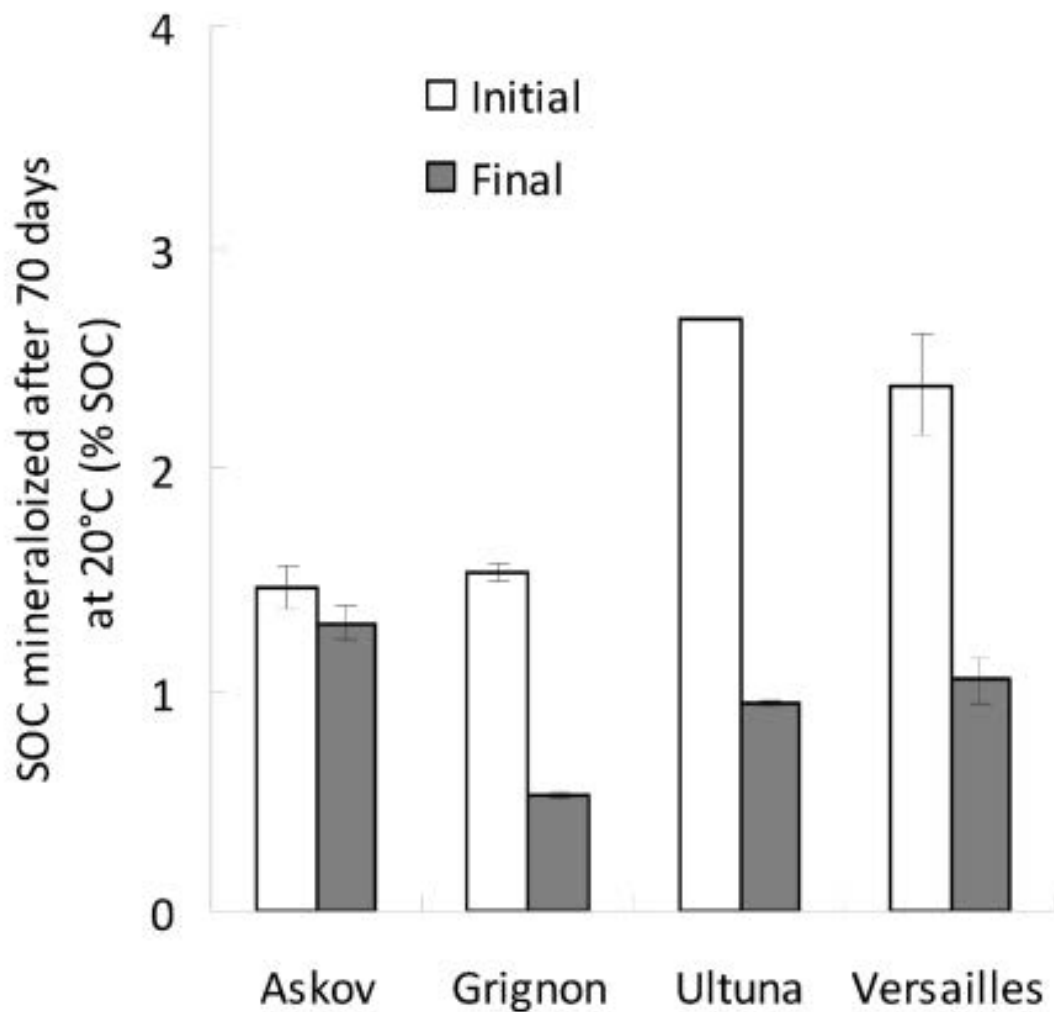


Figure 12 : Percentage of SOC mineralized at 20°C after 70 days of incubation of initial and final soil samples from the four sites. White and grey bars refer to initial and final samples respectively. Errors bars represent standard errors.

Source : [Lefèvre et al., 2014]

Mean respiration rates (k) calculated using the initial 50 mg C kg⁻¹ soil respired at 4°C, 12°C, 20°C and 35°C for the Versailles soils are reported in Figure 13. The mean respiration rate was consistently lower for final compared to initial samples. As expected, the temperature of the incubation greatly influenced k for both initial and final samples, with soil respiration clearly increasing with temperature. At Versailles, the mean k increased from 0.036 to 0.494 year⁻¹ in initial samples and from 0.009 to 0.150 year⁻¹ in final samples when

temperature was increased from 4 to 35°C. The temperature response followed a near exponential relationship, meaning that in absolute terms, respiration rates for all sites increased more in initial than in final samples. This was expected as it is commonly observed that the overall temperature response increases with mineralization rate (Sierra, 2012). The scope of the present work was to compare the relative temperature sensitivity based on calculations of activation energy.

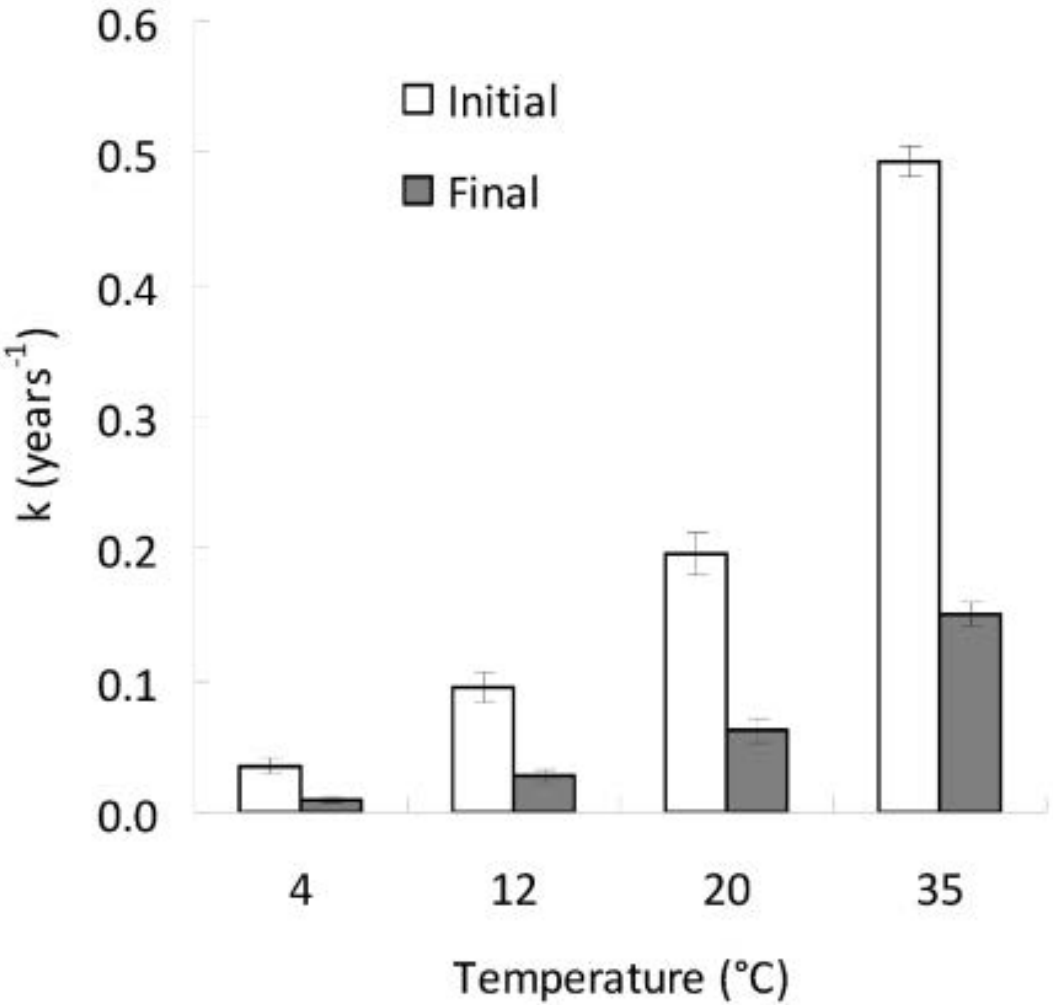


Figure 13 : Mean respiration rate (year⁻¹) calculated using the initial 50 mg C kg⁻¹ soil mineralized at 4°C, 12°C, 20°C and 35°C for the soil from Versailles. White and grey bars refer to initial and final samples respectively. Error bars show standard errors.

Source : [Lefèvre et al., 2014]

Activation energy

The activation energy for each replicate sample ranged from 49 to 79 kJ mol⁻¹ (Fig. 14). The activation energy (E_a) of the respired SOC was significantly higher in final than in initial samples at all sites ($p < 0.05$, $p < 0.005$, $P < 0.001$, $p < 0.05$ for Askov, Grignon, Ultuna and Versailles, respectively), the largest differences being observed for soils from Grignon and Ultuna. E_a -values for individual soil replicates are provided as supplementary material (see Table 13 in Appendix).

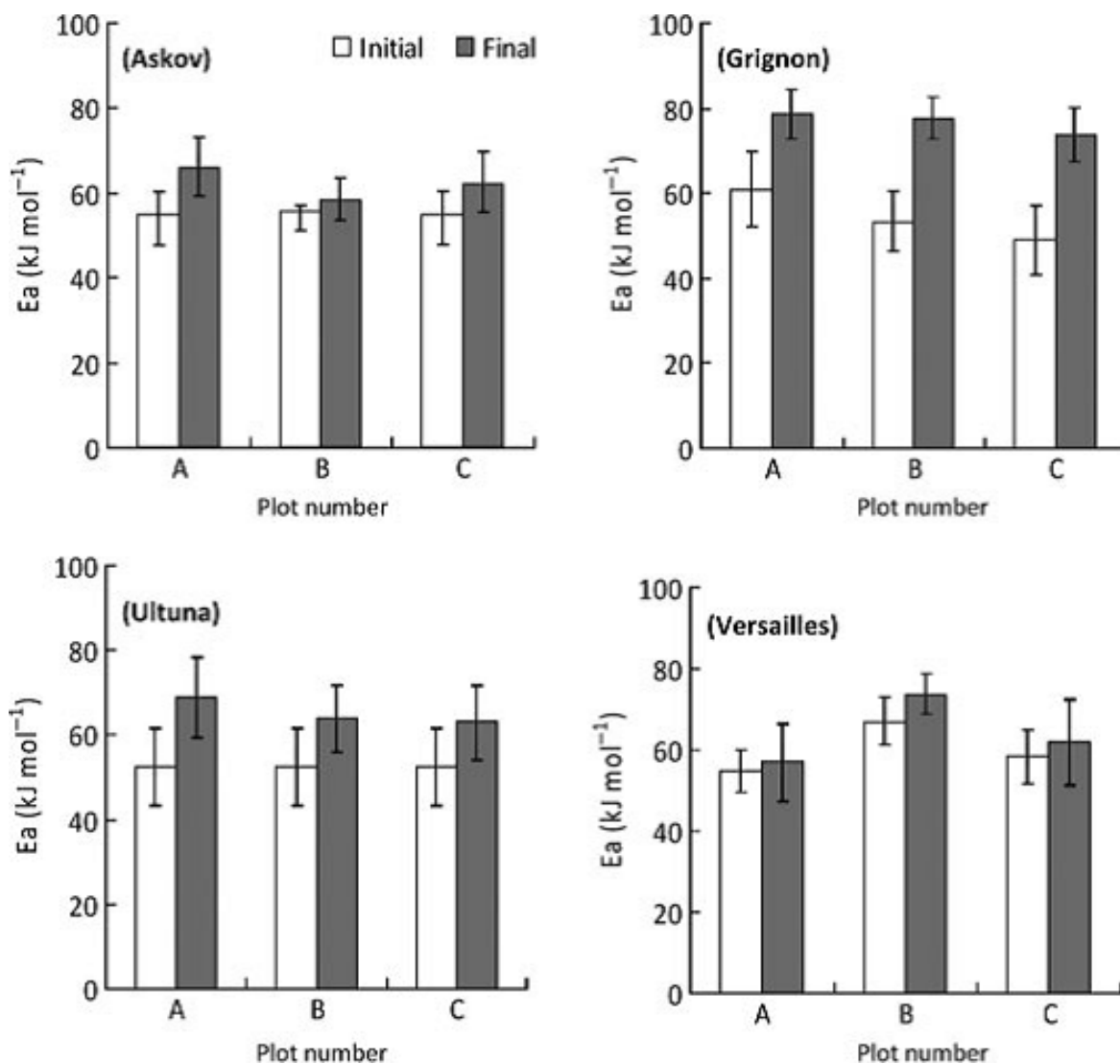


Figure 14 : Activation energy of the initial 50 mg C-CO₂ g soil⁻¹ respired during the incubation of soils from individual replicate plots (here termed A, B and C). Error bars represent standard errors. White and grey bars refer to initial and final samples, respectively. For Ultuna only one initial soil replicate was available, and activation energy values for initial samples were all derived from this replicate.

Source : [Lefevre et al., 2014]

Relationship between activation energy and SOC mean residence time

Figure 15 shows the mean residence time (MRT) calculated from the initial 50 mg CO₂-C kg⁻¹ soil respired at 20°C plotted against Ea for all samples. A significant linear positive relationship was observed between MRT and Ea. Following Craine et al. (2010) who investigated the sensitivity to temperature of 28 soils from a latitudinal North-Central American gradient, the decimal logarithm of R₂₀ was plotted against the decimal logarithm of Ea for all samples (Fig. 16). Results published by Craine et al. (2010) were also included. A significant linear negative relationship between the decimal logarithms of R₂₀ and the activation energy was observed for both datasets. Strikingly, the relationships were very similar for the two datasets. While the slopes were not significantly different, the intercept was slightly higher for the regression based on data from Craine et al. (2010).

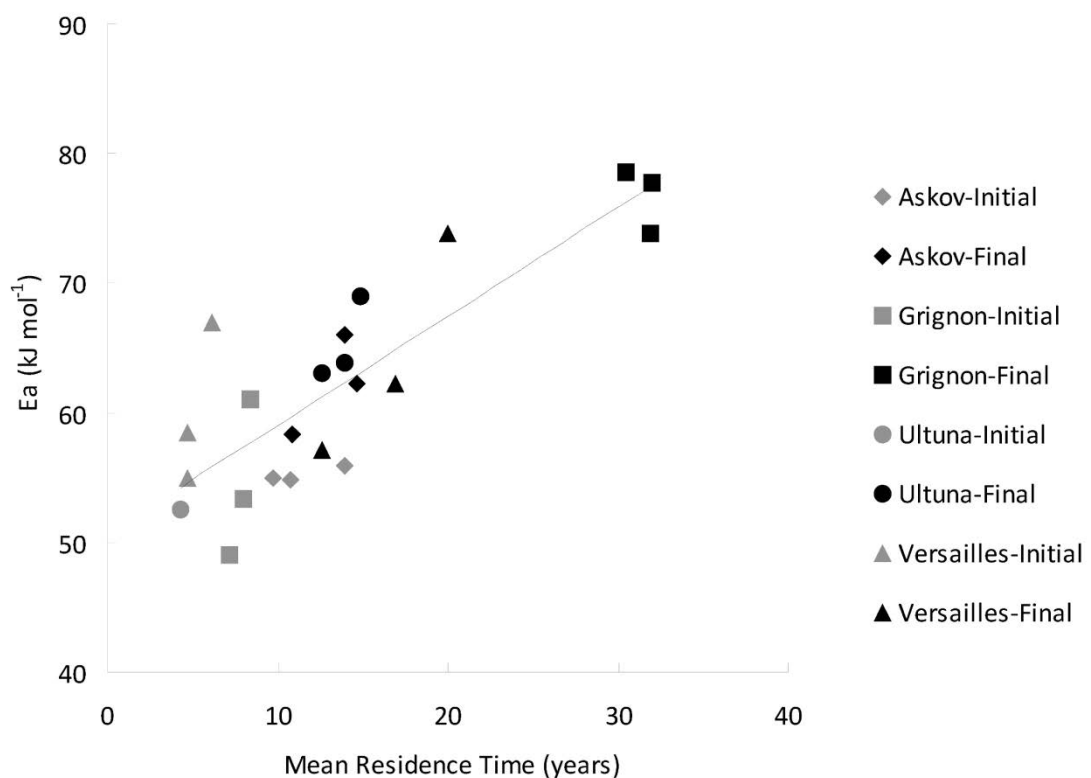


Figure 15 : Relationship between the mean residence time at 20°C (MRT) and the activation energy (Ea). The equation of the linear regressions between MRT and Ea was: $Ea = 50.6 (\pm 2.0) + 0.84 (\pm 0.12) * MRT$ ($r^2=0.70$, $n=22$, $p<0.0001$).

Source : [Lefèvre et al., 2014]

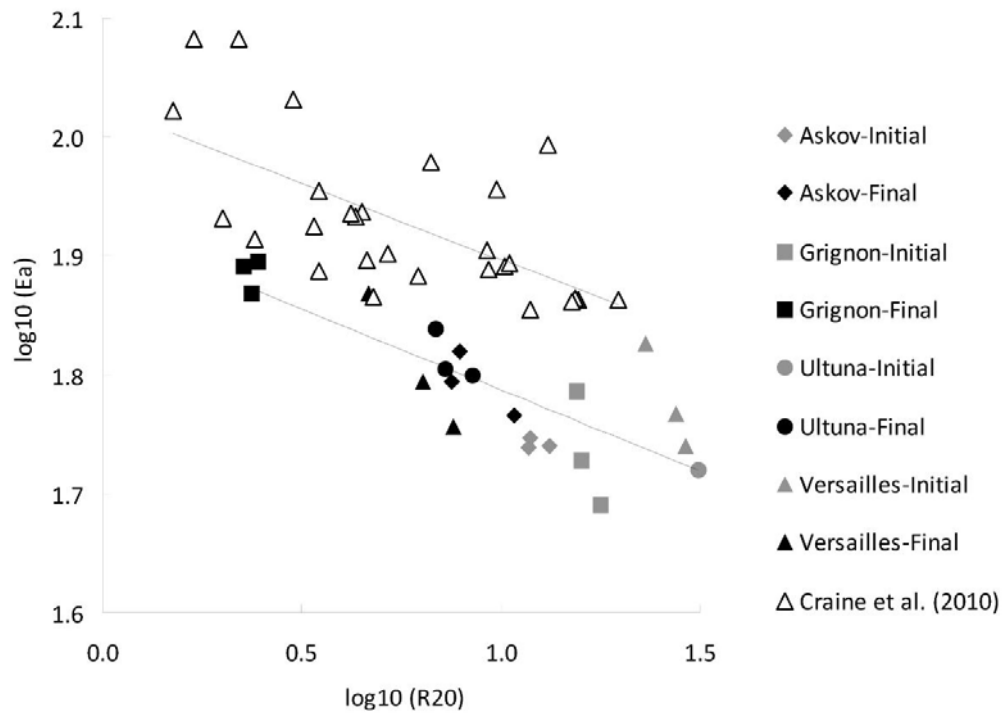


Figure 16 : Relationship between microbial respiration rate at 20°C ($\log R_{20}$) and the activation energy ($\log E_a$) for the initial 50 mg C-CO₂ g soil⁻¹ evolved from the sample. Data from Craine et al. (2010) were also plotted (white triangles).

The equations of the linear regressions between $\log(R_{20})$ and $\log(E_a)$ were:

$$\log(E_a) = 1.92(\pm 0.02) - 0.14(\pm 0.02) * \log(R_{20}) \quad (r^2=0.64, n=22, p<0.0001) \text{ and}$$

$$\log(E_a) = 2.03(\pm 0.02) - 0.13(\pm 0.03) * \log(R_{20}) \quad (r^2=0.41, n=28, p<0.001)$$

for the data of this study and for the data of Craine et al. (2010), respectively.

Discussion

Current lack of knowledge regarding key drivers in the overall SOC dynamics adds to a wide spread in land-surface model forecasts of changes in SOC during the 21st century

(Friedlingstein et al., 2006; Sitch et al., 2008). The sensitivity of SOC to climate derived changes in temperature remains critical to predict feedbacks between SOC turnover and global warming (Heimann & Reichstein, 2008). Until now, the lack of consensus regarding the temperature sensitivity of SOC decay has refrained modelers from adopting different temperature modifying functions for SOC pools with different turnover rates.

Several approaches have been proposed in the literature to estimate the temperature sensitivity of SOC in incubation studies (see for instance the review by Hamdi et al., 2013). Here we chose to fit a first-order kinetic model to results for cumulative respired CO₂. We first tested models with two and three SOC pools in order to account for the theoretical role of several pools contributing to the total rates of CO₂. However, the parameters of these models were poorly constrained and no reliable conclusion on temperature relationships could be drawn. Consequently, we applied a single pool model. According to Arrhenius formalism, the higher the activation energy the higher is the relative temperature sensitivity (Davidson & Janssens, 2006; Sierra, 2012). Figure 14 shows that the activation energy was systematically higher for SOC in final samples than for SOC in initial samples, implying that SOC with a slower turnover rate is more temperature sensitive than SOC with a faster turnover rate. This is in line with results from several conventional incubation studies (e.g. Fierer et al., 2005; Vanhala et al., 2007; Conant et al., 2008; Craine et al., 2010).

The theory of enzyme kinetics predicts that the temperature sensitivity of a reaction depends on the inherent chemical recalcitrance of the reacting substrate, i.e. its activation energy (Kleber et al., 2010). Wagai et al. (2013) observed that temperature sensitivity was correlated with the relative abundance of aromatic plus alkyl groups in the light fraction of organic matter (i.e. the fraction < 1.8 g cm⁻³) providing some experimental evidence for the link between chemical recalcitrance and temperature sensitivity. However, their study focused on organic matter with relatively short turnover times in which biochemical recalcitrance is considered to restrain SOC decomposability.

In most soils, the majority of SOC is present in organic matter intimately associated with the mineral matrix. Organic compounds – chemically recalcitrant or not – can be stabilized in organo-mineral complexes by physico-chemical interactions whereby their turnover rate is decreased. Since the stability of these compounds no longer relates solely to chemical recalcitrance, the Carbon-Quality-Temperature (CQT) hypothesis should theoretically fall short in describing their sensitivity to temperature (Kleber et al., 2011).

Nevertheless, studies on SOC protected by organo-mineral interactions have shown both reduced respiration rates and higher temperature sensitivities (see Craine et al., 2010). It is envisioned that the physico-chemical protection of the SOC increases the overall activation energy due to the additional energy required to release the organic compounds from organo-mineral complexes.

It is now generally accepted that intrinsic chemical recalcitrance of organic compounds does not explain decadal scale residence times of SOC (Conant et al., 2011; Schmidt et al., 2011). Consequently, the slower mineralization rates of SOC observed after several decades of bare fallow is not ascribed to an increase in the chemical recalcitrance of the organic matter per se but rather to an increased proportion of organic matter stabilized by interactions with mineral soil components or protected within soil micro-aggregates. Adsorption onto mineral surfaces requires additional energy for substrates to be released and become available to soil microorganisms. This amount of energy has been estimated to range from 0 to 80 kJ mol⁻¹ (Cornelissen et al., 1997; Johnson & Weber, 2001; Enell et al., 2005). However, the effect of physical protection on the temperature sensitivity of SOC has not been established yet (e.g. Conant et al., 2011). When fresh inputs of organic residues to the soil cease at the time of conversion to bare fallow, the pool of labile POM becomes depleted in the initial phase of the bare fallow period, leading to a gradual increase in the fraction of SOC that remains stabilized in organo-mineral complexes. This may explain the higher activation energy seen for SOC in final samples.

Craine et al. (2010) incubated soils from 28 sites in North and Central America and observed a significant negative correlation between activation energy and SOC mineralization. Here we have observed a significant relationship between E_a and MRT (Fig. 15) and between E_a and R_{20} (Figure 16), but our dataset show lower values for E_a and higher values for R_{20} compared to Craine et al. (2010). In contrast to our study, Craine et al. (2010) incubated soils at 35% of water holding capacity, a moisture level which may be far from optimal for soil heterotrophic respiration (Moyano et al., 2012). Relatively dry soil conditions may have reduced the respiration rates in the samples incubated by Craine et al. and may explain why their mineralization rates were in the same range as those in our study of bare fallow soils depleted in labile SOC. It is interesting to note that in spite of this additional mechanism (i.e. water limitations) leading to the reduced respiration rates, the relationship between MRT and E_a was similar to that of our study. This suggests that environmental

constraints imposed on the microbial community such as scarcity of accessible water may have similar impact on temperature sensitivity as chemical recalcitrance or protection of SOC by the mineral matrix. However, the mechanisms leading to the empirical relationships remain to be elucidated. Taken together, the results of Craine et al. (2010) and of our study suggest that the relationship between SOC mineralization and temperature sensitivity is valid not only for different soils with SOC of different origin and contrasting lability but also for SOC with different lability within a given soil. Since compartmental models delineate pools of SOC with different lability for a given soil, a universal relationship between activation energy and SOC mineralisation facilitates the incorporation of separate temperature sensitivities for different SOC pools. Using the relationship presented in Figure 15 and assuming a labile SOC pool that decomposes 50 times faster than a slow SOC pool, the activation energy of the slow pool would be 1.9 times higher than that of the labile pool. For an almost passive SOC pool with a mineralization rate 500 times smaller than that of the labile pool, the activation energy would be 2.9 times higher for the passive than for the labile pool. With an activation energy of 50 kJ mol^{-1} for the labile SOC, the E_a would be 90 and 145 kJ mol^{-1} for the slow and passive SOC pools, respectively. Using the Arrhenius equation, these values allow for calculating Q_{10} in a temperature range T_1 - T_2 : $Q_{10} = e(10E_a/(R*T_1*T_2))$. Thus, the equivalent Q_{10} values between 20 and 30°C would be 2, 3.4 and 7.1 for the labile, slow and passive pool, respectively. Since LTBF experiments lead to a substantial depletion of the labile pool of SOC, the SOC pools remaining in LTBF soils will show turnover times of decades to centuries. The respiration losses from these soils are mainly derived from SOC pools with turnover times of decades. Consequently, extrapolation of the relationship between E_a and SOC mineralization to SOC pools with turnover times of several centuries should be considered with caution.

In accordance with other studies, we applied the Arrhenius equation for evaluation of the temperature sensitivity. Historically, the Arrhenius equation was developed to describe the temperature effect on gas reactions. Although the equation provides an adequate fit to the data, there is no straightforward theoretical explanation for why SOC respiration aligns with Arrhenius formalism. The calculated activation energy may therefore be considered apparent activation energy and adopted as a fitting parameter describing the change in respiration rate with temperature. This should be acknowledged in future research trying to establish a better mechanistic understanding of the relationship between k and E_a .

Our study clearly shows that the temperature sensitivity differs for SOC with different turnover time. This stresses the need of incorporating different temperature sensitivities into simulation models of SOC turnover. The consistency between our data and those published by Craine et al. (2010) strongly suggests that a consistent relationship exists between MRT and temperature sensitivity. Even though the underlying mechanisms are not fully understood, the relationship establishes a strong basis for linking pool turnover times and temperature sensitivity in SOC turnover models, adding to more accurate predictions of the consequences of a changing climate.

Acknowledgements

The INSU EC2CO program and ADEME are acknowledged for financial support, R2DS program for supporting R.L. and the GIS Climat Environnement Société CarboSoil program for support to F.M. The Danish contribution was financially supported by the EU SmartSoil project. The European Long Term Bare Fallow network was initiated under the auspices of the CarboSoil project. Thanks are addressed to colleagues who over the years have initiated, maintained and continue to maintain the long term experiments. We also appreciated the valuable comments by three anonymous reviewers and associate editor which enhanced the quality of the manuscript.

Chapitre 2: Sensibilité à la température des communautés microbiennes liées à la MOS stable et non stable.

Lefèvre, R., Barré, P., Maron, P-A., Terrat, S., Dequiedt, S., Christensen, B.T., Houot, S., Kätterer, T., van Oort, F., Chenu, C. The sensitivity to temperature of microbial communities depends on soil organic carbon quality, in prep

Romain Lefèvre ^a, Pierre Barré ^b, Pierre-Alain Maron ^c, Sébastien Terrat ^c, Samuel Dequiedt ^c, Bent T. Christensen ^d, Thomas Eglin ^d, Sabine Houot ^e, Thomas Kätterer ^f, Folkert van Oort ^g, Claire Chenu ^a

^a Bioemco laboratory, UPMC, CNRS, INRA, AgroParisTech, Campus Grignon, Thiverval-Grignon 78850, France,

^b Laboratoire de Géologie, CNRS-ENS, 24 rue Lhomond, Paris 75005, France,

^c INRA, UMR1347 Agroécologie, Plateforme GenoSol, Dijon, France.

^d Department of Agroecology, Aarhus University, AU-Foulum, Tjele, DK-8830, Denmark,

^e EGC laboratory, UMR INRA-AgroParisTech, Campus Grignon, Thiverval-Grignon 78850, France,

^f Department of Ecology, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala 75007, Sweden,

^g Pessac laboratory, INRA, Versailles 78026, France

Abstract

Soil organic carbon (SOC) quantity (e.g. Aciego Pietri and Brookes, 2009; Baumann et al., 2009; Pascault et al. 2010), quality (Feng and Simpson, 2009) as well as temperature (Feng and Simpson, 2009; Buyer et al., 2010) have a strong impact on the biodiversity and community structure of soil microorganisms. But to our knowledge the sensitivity of microbial community structure to a perturbation (such as a temperature increase) when the organic carbon resource is scarce is poorly documented. Our aim was to investigate the soil microbial community structure in response to labile organic carbon depletion and a temperature increase.

To do so, we selected archived soil samples from four long-term bare fallow experiments located at Askov (Denmark), Grignon (France), Ultuna (Sweden) and Versailles (France). We used samples sampled at the start of each experiment and after 25, 48, 53 and 79 years of bare fallow respectively (which are depleted in labile organic carbon).

Soil samples were incubated at three different temperatures (4, 20, 35°C) and at a constant soil moisture (pF= 2.5) for 427 days. During the incubation, soil respiration was regularly monitored using a μ GC technique. These measurements shown that the organic carbon contained in soils sampled after several decades of bare fallow is more resistant to microbial degradation. At the end of the incubation soil microbial DNA was extracted and amplified. We then studied the microbial community structures using pyrosequencing techniques.

Both microbial community richness and equitability are impacted when the biodegradability of the organic carbon resource decreased. Overall richness and equitability were higher at reasonable temperatures (i.e. 4 and 20°C) when organic resource is scarce but they dramatically decreased at 35°C. Moreover, several phyla are particularly impacted by the availability and/or the quality of the organic resource and exhibit oligotrophic (such as Acidobacteria and Actinobacteria) or copiotrophic (Firmicutes) behaviour. The temperature had more impact when bare fallow duration increased, showing that (i) sensitivity of microorganisms to this stress increased when the trophic resource decreased and that (ii) a more diverse community is not necessarily exhibiting a higher resistance to environmental stresses.

Résumé

La quantité (e.g. Aciego Pietri and Brookes, 2009; Baumann et al., 2009; Pascault et al. 2010), la qualité (Feng and Simpson, 2009) de carbone organique dans le sol tout comme la température (Feng and Simpson, 2009; Buyer et al., 2010) ont un impact important sur la biodiversité et sur la structure des communautés microbiennes du sol. Mais à notre connaissance, la sensibilité de la structure des communautés microbiennes à une perturbation (comme une augmentation de la température) quand la teneur en carbone organique devient rare est très peu documentée. Notre but a été d'étudier la réponse de la structure des communautés microbiennes du sol quand la température augmente dans des sols appauvris en carbone labile.

Pour ce faire, nous avons sélectionné des sols archives provenant de quatre essais de jachère nue de longue durée situés à Askov (Danemark), Grignon (France), Ultuna (Suède) et Versailles (France). Nous avons utilisé des échantillons prélevés au début de chaque essai et après respectivement 25, 48, 53 et 79 ans de jachère nue (ces derniers étant appauvris en carbone labile).

Ces échantillons ont été incubés à trois températures différentes (4, 20, 35°C) et à une humidité constante (pF= 2.5) pendant 427 jours. Pendant cette incubation, la respiration du sol a été suivie grâce à un micro-chromatographe en phase gazeuse. Ces mesures ont montré que le carbone contenu dans les échantillons prélevés après plusieurs décennies de jachère nue était plus résistant à la décomposition microbienne. A la fin de l'incubation, l'ADN microbien a été extrait puis purifié.

La richesse comme l'équitabilité des communautés microbiennes sont impactés par la baisse de la disponibilité de la ressource organique. Globalement, l'équitabilité et la richesse sont plus élevées à des températures modérées (i.e. 4 and 20°C) quand la ressource est rare mais elles baissent drastiquement à 35°C. De plus, plusieurs phyla sont particulièrement touchés par la disponibilité/qualité de la ressource organique et montre parfois des pattern oligotrophes (comme Acidobacteria et Actinobacteria) ou copiotrophes (Firmicutes). La température a eu un impact plus élevé quand la durée de jachère augmentait, montrant que (i) la sensibilité des microorganismes à ce stress augmentait quand la disponibilité de la ressource organique baissait et que (ii) une communauté plus diverse n'est pas nécessairement plus résistante à un stress environnemental.

Introduction

Soil microorganisms play a key role in soil processes such as nutrients cycling and greenhouse gases emissions. The IPCC projects a temperature increase of 0.3-4.8°C at the global scale by the year 2100 as well as longer and more frequent extreme events such as heat waves (IPCC, 2014). How the microbial communities will respond to these changes and how these changes will affect soil functions is a challenge for the soil scientific community.

The abundance and quality of the trophic resource, i.e. soil organic matter for most soil microorganisms, has long been identified to be a major driver of soil microorganisms abundance and microbial community composition. However, these investigations were mainly based on measurements of global quantitative parameters such as microbial biomass, respiration rate or enzymatic activities (Acosta-Martinez et al., 2007; Allison et al., 2007; Elfstrand et al., 2007).

Soil organic matter consists mostly of partially decomposed plant debris, microbial-derived compounds and fire-derived pyrogenic material interacting to varying degrees with the soil mineral matrix (e.g., Gleixner et al., 2001; Cotrufo et al., 2013) and exhibit, as a consequence highly contrasting turnover times ranging from a few minutes to several millennia. In order to get insights of the link between organic carbon decomposability and soil microbial communities structure many studies focused on soil microbial communities in soils differing in their native SOC quality (Feng and Simpson, 2009) or studied the impact on soil microbial communities of added organic matter such as plant residues (e.g. Aciego Pietri and Brookes, 2009; Baumann et al., 2009; Pascault et al. 2010), or low molecular weight molecular compounds (e.g. Eilers et al., 2010; Pennanen et al., 2004). Such studies provided interesting insights on the influence of easily degradable compounds addition on soil microbial communities but information on the link between SOC decomposability, especially stable SOC at the pluri-decadal timescale which represents most of SOC, and microbial community structure are still scarce.

One potential explanation for this lack of knowledge is the difficulty to physically isolate SOC that is stable at the pluri-decadal timescale and consequently being able to study the microbial communities degrading such stable C. Among the proposed methods, those based on hydrolysis or oxidation treatments are criticized in their ability to isolate such a stable pool (Plante et al. 2010; Lutfalla et al. 2014) and destroy soil microorganisms. An

elegant way to both isolate soil organic C and to preserve soil microbial biomass would be to use soil samples from long-term bare fallow experiments. Indeed, in such experiments, C inputs to the soil were stopped several decades ago. Soils became thus gradually enriched in organic compounds with long turnover time as the most labile compounds were mineralized. Regular sampling and proper archiving of soil samples during the LTBF experiments has generated chronosequences of soils containing SOM with contrasted turnover times (Barré et al., 2010), decomposability and temperature sensitivity (Lefèvre et al., 2014). The high interest of these long term trials has already stimulated many studies, including studies on soil microorganisms. However, if such studies reported a decrease of the soil microbial biomass in bare fallow soils compared to a grassland or a cultivated land, attributed to a decrease of the soil organic C content (e.g. Hirsh et al. 2009; Wang et al. 2009; Paterson et al., 2011; Wagai et al., 2013; Börjesson et al. 2012), there is little information on the potential impact of the decline in SOC on soil microbial community structure. Using a 13-years-old bare fallow experiment Wang et al. (2009) observed that the diversity of bacteria seems more affected by depth than land management (Wang et al., 2009). Hirsch et al. (2009) showed no difference in soil microbial diversity after 50 years of bare fallow, as assessed using Biolog, PLFAs, DNA or RNA DGGE. However, Paterson et al., (2011) using PLFAs observed clear differences in terms of microbial community structure in the same >50-years-old bare fallow experiment leading to a decrease of the relative abundance of Gram+ (such as the relative abundance of Actinomycetes), Gram- bacteria biomarkers and fungi biomarkers in the bare fallow soils (Paterson et al. 2011).

It is generally assumed that biodiversity ensures the stability of ecosystem function following perturbations (e.g. Griffiths et al. 2001). The soil organic C content and quality for decomposers may affect the ability of microbial communities to withstand stresses in several ways: by influencing the diversity of soil organisms, and by affecting their physiological status. Several studies, reviewed by Allison and Martiny (2008), investigated the resistance of soils with contrasting soil C content to stresses. Long term bare fallow soils sampled at the initiation of the bare fallow and several decades later, thus containing highly contrasted SOC quantity and quality for decomposers, would provide an interesting experimental set up to test the ability of microbial communities to withstand stresses. We hypothesized that microbial communities sustained by a smaller and more difficult to degrade SOC resource would be more sensitive to environmental stresses (Kuan et al., 2007; Griffiths and Philippot, 2012).

In this study we took advantage of the highly valuable long term bare fallow samples (i.e. readily and available organic compounds depletion) and next generation pyrosequencing techniques to search for links between stable soil organic C and soil microbial taxa and investigate how the soil organic matter status influences the sensitivity of soil microbial community structure to a stress, here temperature. The following hypotheses were tested:

(i) Long-term bare fallow management and the associated decrease of soil organic C content lead to a modification of soil microbial biomass and community structure. Soil microbial communities incubated at warmer temperatures (i.e., 35°C) differ from soil microbial communities incubated at colder temperatures (i.e., 4 and 20°C).

(ii) The sensitivity of soil microbial communities to temperature elevation increases in soils deprived in labile soil organic matter.

Material and Methods

Soils

We used soils from four differently located long-term bare fallow experiments in which plots have been kept free of vegetation by hand weeding, herbicides, or cultivation treatments for several decades. These plots did not receive any organic amendment all along the bare fallow experiment period. The soils were from the Lermarken site at Askov Experimental Station, Denmark, the 36-plots experiment in the gardens of the «Château de Grignon» at Grignon, France, the long-term agronomical experiment located at the Swedish University of Agricultural Sciences at Ultuna in Uppsala, Sweden, and from the 42-plots experiment at the INRA station in the park of the 'Château de Versailles' at Versailles, France. These experiments are described in more detail by Barré et al. (2010). The soils differ in their main characteristics (Table 4). Although carbon inputs were not completely eliminated in bare fallows due to atmospheric deposition, occurrence of blue-green algae as well as occasional weeds and mosses, these inputs can be considered as negligible at the four studied sites. While particulate organic matter (POM) was observed in soils sampled at the start of bare fallows, POM were not found in soils under sustained bare fallow.

| Site | Askov | Grignon | Ultuna | Versailles |
|--|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Starting date | 1956 | 1959 | 1956 | 1929 |
| Last sampling | 1982 | 2007 | 2009 | 2008 |
| Previous land use | Arable | Grassland | Arable | Grassland |
| Mean annual temperature (°C) | 7.8 | 10.7 | 5.5 | 10.7 |
| Sampling depth (m) | 0 – 0.2 | 0 – 0.25 | 0 – 0.2 | 0 – 0.25 |
| Soil texture (mass % clay/silt/sand) | 7 / 11 / 82 | 30 / 54 / 16 | 36 / 41 / 23 | 17 / 57 / 26 |
| Initial OC content (mg C g soil ⁻¹) | 17.09 (0.40) | 13.53 (0.63) | 15.66 | 20.03 (0.75) |
| Final OC content (mg C g soil ⁻¹) | 11.59 (0.64) | 8.59 (0.17) | 10.55 (0.60) | 6.47 (0.25) |
| Initial N content (mg N g soil ⁻¹) | 1.66 (0.02) | 1.60 (0.05) | 1.67 | 1.97 (0.03) |
| Final N content (mg N g soil ⁻¹) | 1.11 (0.05) | 1.02 (0.01) | 1.02 (0.00) | 0.65 (0.03) |
| Initial C/N ratio | 10.27 (0.15) | 8.44 (0.16) | 9.35 | 10.15 (0.27) |
| Final C/N ratio | 10.47 (0.24) | 8.39 (0.14) | 10.32 (0.45) | 10.05 (0.31) |

Table 3: Selected site characteristics. Numbers in brackets are standard errors.

We used soil samples (stored air dry in the dark) collected at an early stage of the bare fallow treatment and after decades of bare fallow. Archived soils from the onset of bare fallow were taken in 1957, 1959, 1956, and 1929 at Askov, Grignon, Ultuna and Versailles, respectively, and labelled ‘initial samples’. Archived soils subject to several decades of bare

fallow were taken in 1982, 2007, 2009, and 2008 at Askov, Grignon, Ultuna, and Versailles, respectively, and labelled 'final samples'. As a consequence, the four bare fallows last for different durations: 25, 49, 53 and 79 years for Askov, Grignon, Ultuna, and Versailles, respectively. Soil from three replicate plots for each site and each sampling date were collected, except for Ultuna where only soil from one replicate was available for initial samples. Samples were sieved to <2 mm.

Incubation and respiration measurements

Soil microcosms were built up by placing five grams of each soil samples in 120-ml incubation flasks, with four replicates per soil. The soil moisture was adjusted to pF = 2.5 with deionized water and the soils were pre-incubated at 20 °C for 2 weeks in the dark. The flasks were then sealed and incubated for further 427 days at 4, 20, or 35 °C in the dark as described in Lefevre et al. (2014). Soil moisture was checked by weighing to ensure that moisture levels remained above 95% of the initial content.

Sampling of incubated soils and characterization

Immediately after the last soil respiration measurement, 2.5 grams of each soil sample were air-dried and then stored in vials for further soil analyses. Another 2.5 grams of each soil sample were immediately put at -20°C for microbial analyses. Organic C and total N contents were determined on non-incubated samples and samples that had been incubated during 427 days using an elemental analyser (EA-IRMS, NA-1500, Carlo-Erba).

Soil DNA extraction

The DNA extraction procedure used in this study was initially developed and optimized by the GenoSol platform (Terrat et al., 2014). 1g of soil was added to a 15 ml Falcon tube containing 2.5 g of 1.4 mm diameter ceramic beads, 2 g of 106 μm diameter silica beads and four glass beads of 4 mm diameter. Each soil sample was mixed with a solution of 100 mM Tris-HCl (pH 8), 100 mM EDTA (pH 8), 100 mM NaCl, 2% (w/v) sodium dodecyl sulfate. The tubes were then shaken for 3×30 s at 4 m sec^{-1} in a FastPrep®-24 (MP-Biomedicals, NY, USA), before incubation for 30 min at 70°C and centrifugation at 7,000g for 5 min at 20°C. After removing the supernatant, proteins were precipitated with 1/10 volume of 3 M sodium acetate pH 5.5 prior to centrifugation (14,000g for 5 min at 4°C). Finally, nucleic acids were precipitated by adding 1 volume of ice-cold isopropanol. The DNA pellets obtained after centrifugation (14,000g for 5 min at 4°C) were then washed with 70% ethanol prior centrifugation (14,000g for 5 min at 4°C). After ethanol elimination, the crude DNA extracts were resuspended in H₂O.

DNA purification and quantification

All crude soil DNA extracts were purified and quantified using the same procedure (Terrat et al., 2014). Briefly, 100 μl aliquots of crude DNA extracts were loaded onto PVPP (polyvinylpolypyrrolidone) Microbiospin minicolumns (Bio-Rad) and centrifuged for 4 min at 1000g and 10°C. Eluates were then collected and purified for residual impurities using the GeneClean Turbo kit (MP-Biomedicals, NY, USA). Purified DNA extracts were quantified using the PicoGreen staining Kit (Molecular Probes, Paris, France).

Pyrosequencing of 16S and 18S rRNA gene sequences

Microbial diversity was determined for each soil by 454 pyrosequencing of ribosomal genes using a protocol already described (Terrat et al., 2014). Briefly, a 16S rRNA gene fragment with sequence variability and appropriate size (about 450 bases) for 454 pyrosequencing was amplified using the primers F479 (5'-CAGCMGCYGCNGTAANAC-3') and R888 (5'-CCGYCAATTCMTTTRAGT-3'). For each sample, 5 ng of DNA were used for

a 25 µl of PCR conducted under the following conditions: 94°C for 2 min, 35 cycles of 30 s at 94°C, 52°C for 30 s and 72°C for 1 min, followed by 7 min at 72°C. The PCR products were purified using a MinElute gel extraction kit (Qiagen, Courtaboeuf, France) and quantified using the PicoGreen staining Kit (Molecular Probes, Paris, France). Similarly, an 18S rRNA gene fragment of about 350 bases was amplified using the primers FR1 (5'-ANCCATTCAATCGGTANT-3') and FF390 (5'-CGATAACGAACGAGACCT-3') (Prevost-Bouré et al., 2011) under the following PCR conditions: 94°C for 3 min, 35 cycles of 1 min at 94°C, 52°C for 1 min and 72°C for 1 min, followed by 5 min at 72°C. A second PCR of nine cycles was then conducted twice for each sample under similar PCR conditions with purified PCR products and 10 base pair multiplex identifiers added to the primers at 5' position to specifically identify each sample and avoid PCR bias. Finally, the duplicate PCR products were pooled, purified and quantified as previously described. Adaptors ligation, emPCR and pyrosequencing were then carried out on a GS FLX Titanium (Roche 454 Sequencing System) by Genoscreen (Lille, France).

Bioinformatic analysis of 16S and 18S rRNA gene sequences

Bioinformatic analyses were done using the GnS-PIPE initially developed by the Genosol platform (INRA, Dijon, France) (Terrat et al., 2012) and recently optimized. The parameters chosen for each bioinformatic step can be found in Table 5. First, all the 16S and 18S raw reads were sorted according to the multiplex identifier sequences. The raw reads were then filtered and deleted based on (i) their length, (ii) their number of ambiguities (Ns) and (iii) their primer(s) sequence(s). A PERL program was then applied for rigorous dereplication (i.e. clustering of strictly identical sequences). The dereplicated reads were then aligned using INFERNAL alignment (Cole et al., 2009), and clustered into OTU using a PERL program that groups rare reads to abundant ones, and does not count differences in homopolymer lengths. A filtering step was then carried out to check all single singletons (reads detected only once and not clustered, which might be artefacts, such as PCR chimeras) based on the quality of their taxonomic assignments. Finally, in order to compare the data sets efficiently and avoid biased community comparisons, the reads retained were homogenized by random selection closed to the lowest dataset. The retained high-quality reads were used

for (i) taxonomy independent analyses, determining several diversity and richness indices using the defined OTU composition at the genus level and (ii) taxonomy-based analysis using similarity approaches against dedicated reference databases from SILVA (Quast et al., 2013) (see Table 5). The raw data sets are available on the European Bioinformatics Institute database system under project accession number XXX.

| Step | Parameter description | 16S | 18S |
|----------------|---|----------------------|----------------------|
| Preprocessing | Minimum length threshold | 350 | 300 |
| | Number of ambiguities tolerated | 0 | 0 |
| | Detection of proximal primer sequence | Complete and perfect | Complete and perfect |
| | Detection of distal primer sequence | Complete and perfect | Complete and perfect |
| Filtering | Chosen clustering similarity threshold | 95 | 95 |
| | Used taxonomic database | SILVA (r114) | SILVA (r111) |
| | Chosen taxonomic level | Phylum | Phylum |
| | Minimum similarity threshold (%) | 90 | 85 |
| Homogenization | High-quality reads kept for each sample | 2,500 | XXX |
| Clustering | Chosen level of similarity (%) | 95 | 95 |
| | Ignoring differences in homopolymer lengths | Yes | Yes |
| Taxonomy | Used taxonomic database | SILVA (r114) | SILVA (r111) |
| | Method or tool of comparison | USEARCH | MEGABLAST |
| | Similarity or confidence threshold (%) | 80 | 80 |

Table 4: Bioinformatic parameters and databases used in the analysis of pyrosequencing results.

Results

Impact of long term bare fallow and temperature incubation on soil organic carbon content

Long term bare fallow treatment led to a decrease of soil organic carbon (Table 4) at every site (p value < 0.01). Interestingly, the bare fallow treatment did not change significantly soil organic matter C: N ratios. Soil samples incubation led to a decrease of soil organic carbon content (Table 6). Smallest and greatest absolute decreases were observed respectively for soil samples incubated at 4°C and 35°C. As observed in a previous study (Lefevre et al., 2014), the mean mineralization rates of soil organic carbon were lower in final soil samples. As expected, soil organic carbon in final soil samples was therefore less decomposable.

| Site | Status | Temperature | | |
|------------|---------|-------------|------------|------------|
| | | 4°C | 20°C | 35°C |
| Askov | Initial | 16.7 (0.3) | 16.2 (0.3) | 14.4 (1.0) |
| | Final | 11.4 (0.5) | 11.0 (0.5) | 10.7 (0.5) |
| Grignon | Initial | 13.2 (0.5) | 12.8 (0.5) | 12.1 (0.5) |
| | Final | 8.5 (0.1) | 8.4 (0.1) | 8.2 (0.1) |
| Ultuna | Initial | 15.0 | 14.2 | 11.1 |
| | Final | 10.4 (0.4) | 10.2 (0.4) | 8.8 (0.4) |
| Versailles | Initial | 19.2 (0.6) | 18.5 (0.4) | 16.6 (0.5) |
| | Final | 6.4 (0.2) | 6.2 (0.2) | 6.1 (0.1) |

Table 5: Mean values for organic carbon organic content (in gC kg⁻¹ soil) of the initial and final samples after 427 days of incubation at 4°C, 20°C and 35°C. Numbers in brackets are standard errors.

Impact of long term bare fallow and temperature incubation on microbial biomass

Microbial ‘density’ was positively correlated to soil organic content (see Fig. 28 in Appendix; $r^2=0.41$; p value = $7.51 \cdot 10^{-9}$). It was systematically higher in initial soil samples except for Ultuna’s soil samples incubated at 4°C (data not shown). However, in order to focus on the impact of soil organic carbon quality on soil microorganisms we normalized the results to the soil organic carbon content. When normalized to the organic carbon content the DNA extracted was lower in initial soil samples in many cases (Figure 17). The only clear impact of the bare fallow on the amount of microbial DNA was observed at Versailles where final samples had clearly a lower amount of extracted DNA per mgC compared to initial samples.

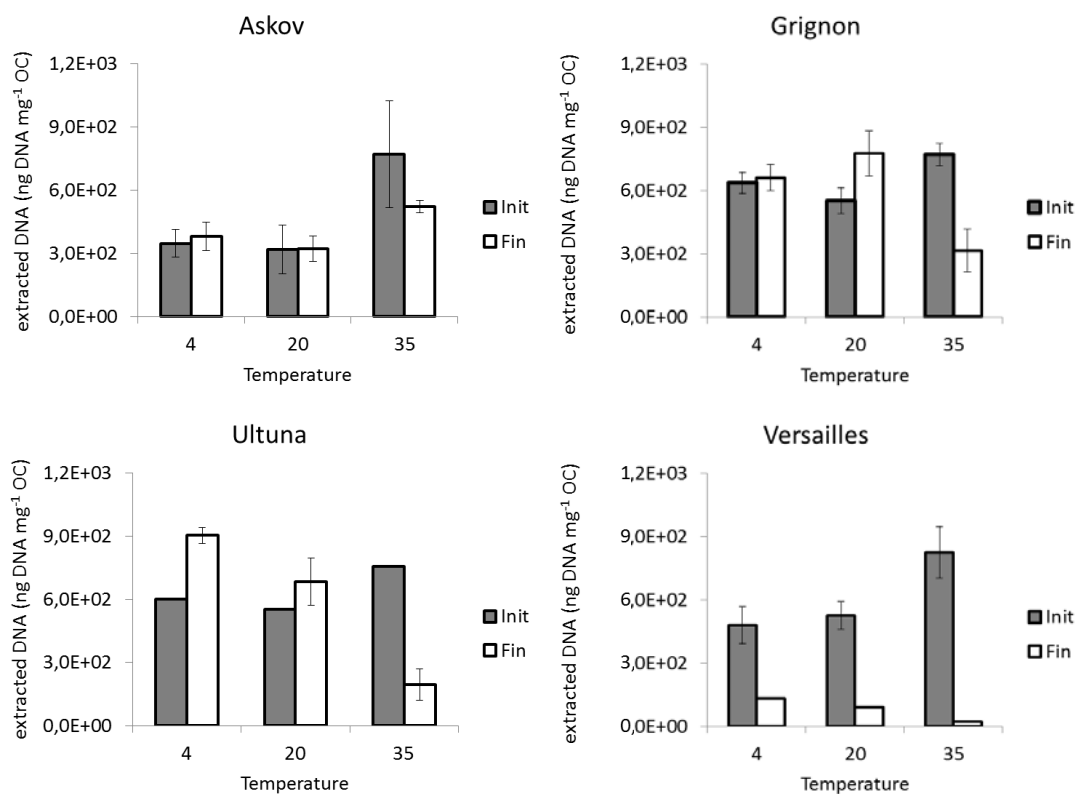


Figure 17 : Microbial biomass for initial (gray bars) and final (open bars) plots incubated at 4°C, 20°C and 35°C. Error bars show standard error (n=3, except for Ultuna “Init”).

Source : [Lefèvre et al., (in prep)]

As expected total microbial DNA was positively correlated with soil organic C content at the end of the incubation (Figure 28 in Appendix). Temperature seemed to have contrasting

effect on initial and final samples: total extracted DNA increased at 35°C in initial samples and decreased at 35°C in final samples (except for Askov where the bare fallow duration was the shortest).

Bacterial biomass estimated with the extracted 16S rDNA was systematically higher in initial soil even when normalized to the organic carbon content (Figure 29 in Appendix). Due to the very low amount of recovered DNA in Versailles' final samples, the 16S rDNA copies could not be determined for these samples. Temperature had a limited effect on the bacterial biomass in initial samples. On the contrary, bacterial biomass estimated with the extracted 16S rDNA tended to decrease at 35°C in final samples. The effect of temperature on initial and final samples looked similar for all sites, with a general trend of decreasing fungal biomass with temperature (Figure 30 in Appendix). Due to the very low amount of recovered DNA in Versailles' final samples, the 18S rDNA copies could not be determined for these samples.

| Site | Status | 4°C | 20°C | 35°C |
|------------|---------|---------------|----------------|----------------------|
| Askov | Initial | 723 (314) | 5,507 (3003) | 13,123 (5,488) |
| | Final | 1,158 (262) | 1,627 (557) | 6,750 (2,217) |
| Grignon | Initial | 4,754 (1,842) | 11,944 (1,732) | 9,324 (3,187) |
| | Final | 773 (122) | 1,147 (142) | 4,678 (1,043) |
| Ultuna | Initial | 1,684 | 1,128 | 21,108 |
| | Final | 126 (66) | 228 (33) | 48,805 (29,803) |
| Versailles | Initial | 9,605 (9,441) | 6,197 (5,985) | 386,832 (379,268) |
| | Final | N.A. | N.A. | N.A. |

Table 6: Mean values for bacteria to fungi ratios of the initial and final samples after 427 days of incubation at 4°C, 20°C and 35°C. Numbers in brackets are standard errors.

On average, bacteria to fungi ratio were higher in initial samples than in final samples (Table 7). Temperature had a high impact on bacteria to fungi ratio, the 16S/18S ratio increased with temperature. The effect of temperature was the clearest for 35°C.

Impact of long term bare fallow and temperature incubation on soil microbial diversity

We analyzed 645,793 microbial sequences (398,935 for bacteria and 246,858 for fungi). On average, we analyzed 6,762 bacterial sequences and 6,857 fungal sequences per sample with values ranging between 1,265 and 16,709 sequences.

Table 8 shows bacterial richness, evenness and Simpson's index at the end of the incubation for initial and final samples from all sites. On average, bacterial Simpson's index was lower in final samples (i.e. diversity was higher in these samples). Temperature had a high impact on Simpson's index in initial samples where diversity decreased when temperature increased. There were systematically more bacterial clusters detected in final samples compared to initial samples (except for Versailles at 20 and 35°C). The number of bacterial clusters decreased with temperature in final samples, this trend being more pronounced at Grignon, Ultuna and Versailles. In contrast the number of clusters was little influenced by temperature in initial samples. Bacterial evenness indexes were systematically higher in final samples compared to initial samples at 4 and 20°C. If the evenness remained higher in final samples at 35°C for Askov and Grignon samples, they were lower for final samples at 35°C for Ultuna and Versailles. While the evenness indexes did not vary with temperature of incubation in initial samples, they tended to decrease with incubation temperature in final samples.

Table 9 shows fungal richness, evenness and Simpson's index at the end of the incubation for initial and final samples from all sites. On average, bacterial Simpson's index was lower in final samples (i.e. diversity was higher in these samples). However, high temperature (i.e. 35°C) led to an increased Simpson's index in final samples. There were on average more fungal clusters detected in final samples, at 4°C and 20°C. The influence of temperature on fungal richness was not clear neither for initial nor final samples. Contrary to bacteria, no trend with incubation temperature was observed for initial and final samples and fungal evenness indexes were similar for initial and final samples.

| Site | Status | Temperature (°C) | Simpson index | Richness | Evenness |
|------------|---------|---------------------|------------------|----------|---------------|
| Askov | Initial | 4 | 0.118 (0.019) | 360 (47) | 0.544 (0.033) |
| | | 20 | 0.097 (0.005) | 407 (22) | 0.581 (0.001) |
| | | 35 | 0.112 (0.025) | 313 (38) | 0.565 (0.028) |
| | Final | 4 | 0.092 (NA) | 593 (NA) | 0.603 (NA) |
| | | 20 | 0.054 (0.006) | 450 (35) | 0.649 (0.017) |
| | | 35 | 0.098 (0.009) | 421 (3) | 0.610 (0.001) |
| Grignon | Initial | 4 | 0.057 (0.003) | 518 (60) | 0.665 (0.006) |
| | | 20 | 0.038(0.001) | 566 (13) | 0.696 (0.003) |
| | | 35 | 0.044(0.000) | 422 (20) | 0.674 (0.003) |
| | Final | 4 | 0.020 (0.003) | 848 (23) | 0.779 (0.009) |
| | | 20 | 0.023 (0.002) | 735 (22) | 0.767 (0.009) |
| | | 35 | 0.039 (0.004) | 653 (5) | 0.703 (0.010) |
| Ultuna | Initial | 4 | 0.068 (NA) | 488 (NA) | 0.624 (NA) |
| | | 20 | 0.072 (NA) | 453 (NA) | 0.628 (NA) |
| | | 35 | 0.098 (NA) | 285 (NA) | 0.570 (NA) |
| | Final | 4 | 0.014 (0.000) | 699 (36) | 0.791 (0.001) |
| | | 20 | 0.019 (0.003) | 620 (48) | 0.769 (0.013) |
| | | 35 | 0.153 (0.099) | 385 (77) | 0.562 (0.086) |
| Versailles | Initial | 4 | 0.093 (0.013) | 335 (45) | 0.574 (0.021) |
| | | 20 | 0.070 (0.010) | 389 (39) | 0.622 (0.016) |
| | Final | 35 | 0.086 (0.007) | 343 (27) | 0.588 (0.009) |
| | | 4 | 0.039 (0.008) | 470 (60) | 0.711 (0.012) |

| | | | | |
|--|----|---------------|----------|---------------|
| | 20 | 0.075 (0.018) | 341 (67) | 0.637 (0.033) |
| | 35 | 0.249 (0.124) | 191 (9) | 0.491 (0.085) |

Table 7: Mean values for bacterial Simpson index, richness and evenness of the initial and final samples after 427 days of incubation at 4°C, 20°C and 35°C. Numbers in brackets are standard errors.

| Site | Status | Temperature (°C) | Simpson index | Richness | Evenness |
|------------|---------|---------------------|------------------|---------------|---------------|
| Grignon | Initial | 4 | 0.120 (0.065) | 264 (20) | 0.678 (0.007) |
| | | 20 | 0.058(0.014) | 255 (51) | 0.665 (0.072) |
| | | 35 | 0.053(0.005) | 300 (86) | 0.709 (0.017) |
| | Final | 4 | 0.056 (0.019) | 310 (57) | 0.676 (0.024) |
| | | 20 | 0.089 (0.016) | 359 (63) | 0.713 (0.030) |
| | | 35 | 0.047 (0.001) | 304 (40) | 0.692 (0.010) |
| Versailles | Initial | 4 | 0.347 (0.132) | 131 (56) | 0.426 (0.022) |
| | | 20 | 0.304 (0.162) | 215 (15) | 0.485 (0.005) |
| | Final | 35 | 0.122 (0.054) | 175 (36) | 0.627 (0.038) |
| | | 4 | 0.075 (0.009) | 309 (10) | 0.654 (0.122) |
| | | 20 | 0.066 (0.011) | 245 (27) | 0.672 (0.128) |
| | 35 | 0.098 (0.044) | 177 (33) | 0.654 (0.100) | |

Table 8: Mean values for fungal Simpson index, richness and evenness of the initial and final samples after 427 days of incubation at 4°C, 20°C and 35°C. Numbers in brackets are standard errors.

Microbial community taxonomic composition

Bacterial community structure

The bacterial data were presented using a principal component analysis (PCA) of the bacterial community structure (Figure 18). The two first axes of the PCA explained more than 87% of the variance. Initial and final samples were clearly separated along the first axis which explained 59.4% of the variance. This result showed that availability and quality of the trophic resource were the main driver of the microbial community composition. The effect of temperature was observed on the second axis which explained 27.7% of the variance and was clearly the greatest for final samples compared to initial samples.

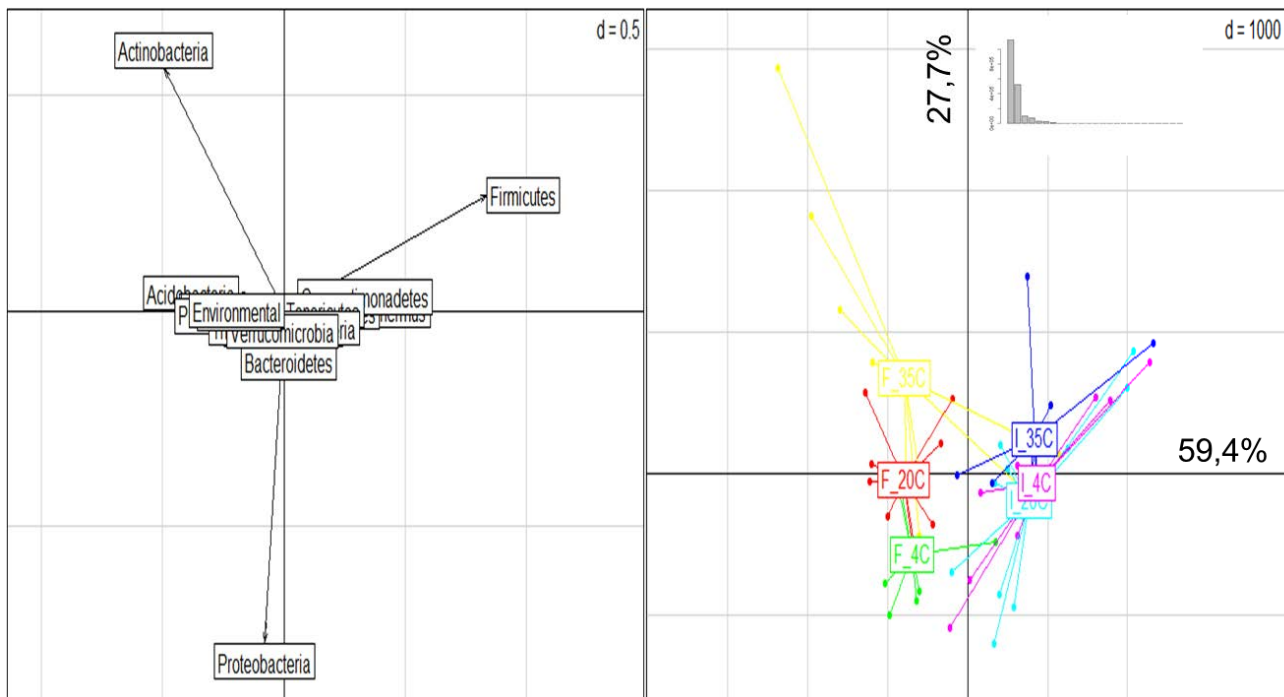


Figure 18 : Principal component analysis of the bacterial community structure of initial samples incubated at 4°C (I_4C), 20°C (I_20C), and 35°C (I_35) and final samples incubated at 4°C (F_4), 20°C (F_20C), and 35°C (F_35).

Source : [Lefèvre et al., (in prep)]

Relative abundance of the more representative bacterial phyla at Askov, Grignon, Ultuna and Versailles for initial and final plots at 4°C, 20°C and 35°C were represented in

Figure 19. Whatever the site or treatment, dominant bacterial phyla were Proteobacteria (18,4% - 61%), Actinobacteria (2,4% - 50,8%) Firmicutes (4,7 % - 57,5%) Acidobacteria (0,1% - 21,3%), Gemmatimonadetes (0,2% - 20,7%), Chloroflexi (0,2% - 10,2%) and Bacteroidetes (0,1% - 12,2%). The bacterial community structure varied with sites, bare fallow duration and temperature.

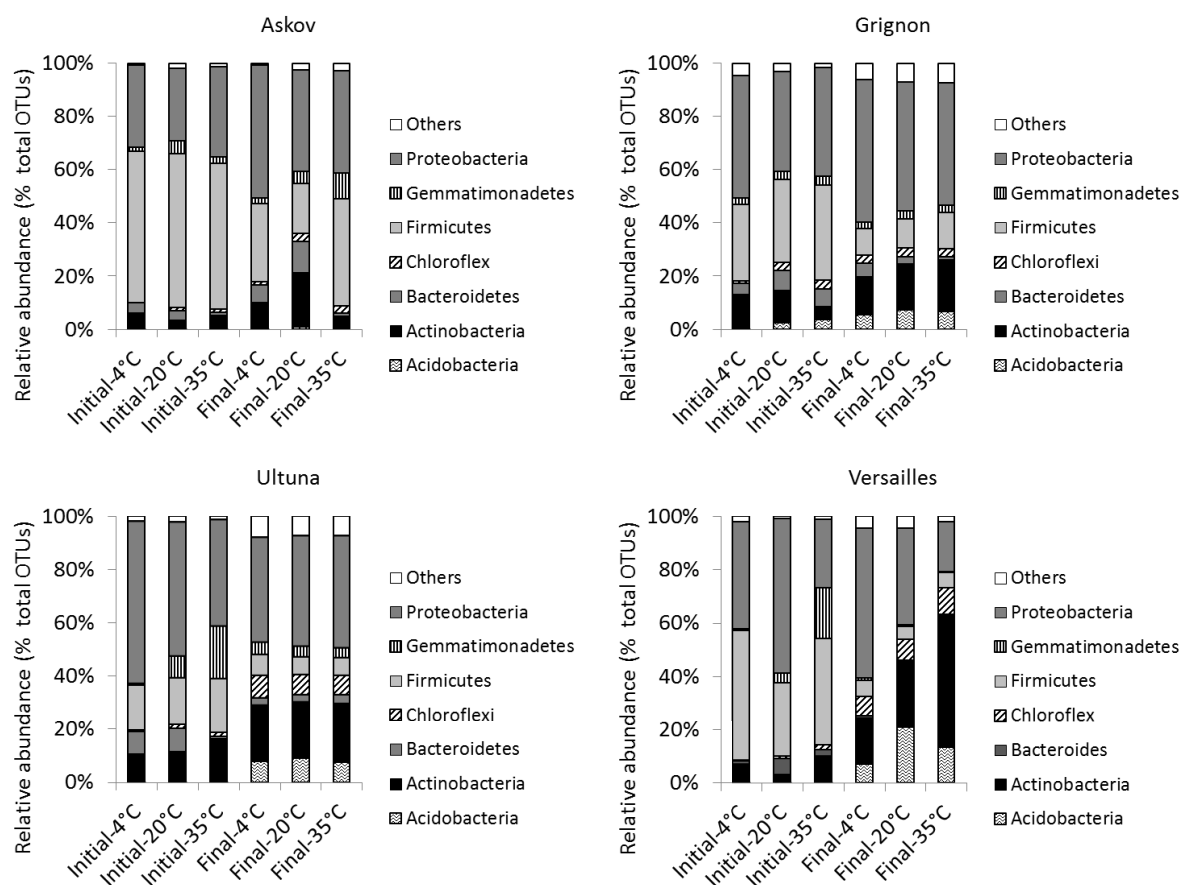


Figure 19 : Relative abundance of the more representative bacterial phyla at Askov, Grignon, Ultuna and Versailles for initial and final plots and at 4°C, 20°C and 35°C.

Source : [Lefèvre et al., (in prep)]

Firmicutes were dominating community structures in most of the samples except for Ultuna samples where this phylum was much less represented. Proteobacteria were dominating in all samples. If Proteobacteria were more represented in final than in initial samples at Askov and Grignon, it was not the case at Ultuna and Versailles. The effect of bare fallow was much clearer for Actinobacteria, with final samples being clearly enriched in

Actinobacteria compared to initial samples. This trend looked similar for Chloroflexi and Acidobacteria, except at Askov where this phylum was nearly absent. The effect of incubation temperature on bacterial community structure was less obvious. Proteobacteria tended to be more abundant in samples incubated at 4°C compared to samples incubated at higher temperatures. Some differences were also observed punctually. For instance, Gemmatimonadetes were more abundant at 35°C than at other temperatures for Askov final, Ultuna initial and Versailles initial, Firmicutes increased at 35°C for Askov final samples and Actinobacteria increased while Proteobacteria decreased at 35°C for Versailles final samples.

Fungal community structure

Relative abundance of the more representative fungal phyla at Grignon and Versailles for initial and final plots at 4°C, 20°C and 35°C were represented in Figure 20. The fungal community structure varied principally with sites, but also with bare fallow duration and temperature. Basidiomycota were dominating community structures in most of the samples except at Versailles for initial samples which are dominated by Ascomycota. Ascomycota was also well represented at Grignon and Versailles in final samples and at overall increased at 35°C except at Versailles in initial samples. Chytridiomycota was also found in all samples but was less representative. This phylum exhibited a preference for final samples at both sites but decreased in final samples at 35°C.

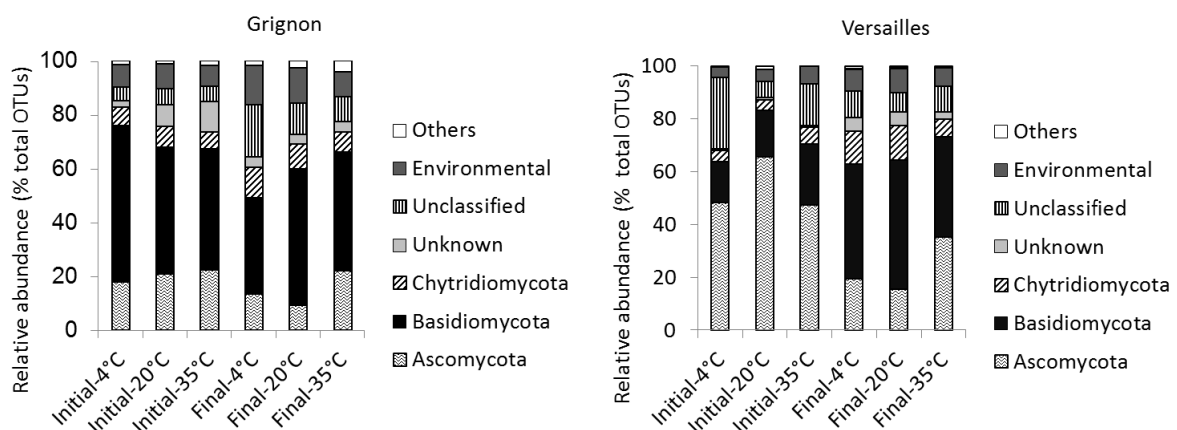


Figure 20 : Relative abundance of the more representative fungal phyla at Grignon and Versailles for initial and final plots and at 4°C, 20°C and 35°C.

Source : [Lefèvre et al., (in prep)]

Discussion

Validation of the experimental set-up

The use of archived air dry stored soil samples has potentially significant drawbacks for the study of soil microorganisms. However, due to technical and practical issues (archived soils sampled decades ago ; most of the samples coming from soil monitoring programs stored dry instead of frozen immediately after sampling), many studies on soil microbial communities have been conducted on soil samples that were stored dry. Several publications addressed the potential issue of storage on soil microbes. De Nobili et al. (2006) observed that air-drying damaged soil microbes but that soil microbial biomass and activity recover quickly, i.e., in two days after soil rewetting, even in soils that had been stored for 83 years. Clark and Hirsch (2008) showed that air-dried soils can protect microbial DNA for more than 150 years and concluded that ancient soils stored dry still have a potential for DNA-based microbiological analysis. Dolfing et al. (2004) showed that systematic differences (due to long term organic or inorganic fertilization) in soil microbial community composition using PCR-DGGE can be observed in soils that have been dried and stored for more than 50 years. Tatangelo et al. (2014) compared the effect of different preservation methods on bacterial community structure in soil samples. They observed that, contrary to samples stored in LifeGuard solution, soil samples stored with no preservative had a microbial community structure similar to that of a soil analyzed immediately after sampling. Based on these studies, it can be considered that microbial community analyses on air-dry soil samples are relevant (especially if all compared samples have been dried), even if the considered samples have been stored for decades.

Moreover, the microbial data reported in the present study fell in the same range of values than measurements reported in studies dealing with fresh soils. For instance, the diversity, evenness and Shannon indexes of microbial communities measured in the present studies are similar to those reported in previous studies (e.g., Lienhard et al., 2013). It can therefore be concluded that microbial communities characterized at the end of the incubation do not differ to soil microbial communities from fresh sampled soils. Even though it should be kept in mind that the studied samples have been kept dried before the experiment, we consider that the results of our long-term bare fallow archived samples incubation are relevant to address the question of the link between SOC degradability and microbial community

structure and the question of the sensitivity to increased temperature of soil microbial community that develops on substrate with differing degradability.

Soil microbial biomass

Long term plant input exclusion led to a decrease of soil organic carbon content and biodegradability in final soil samples (Tables 4 and 6). A smaller amount of DNA was extracted in final soil samples. However, when normalized to SOC the amounts of DNA extracted in initial and final samples were similar for Askov, Grignon and Ultuna. Versailles, where the bare fallow duration is the longest, was the only site where the amount of DNA extracted normalized to SOC content was much lower in final samples. Interestingly, fungi seem less affected by the rarefaction of the trophic resource and its lower biodegradability (see Figure 30 in Appendix). This higher resistance to the decrease of the trophic resource is probably due to the ability of fungi to prospect a much wider soil volume in comparison to bacteria which are highly dependent of their immediate environment.

Temperature had different effect on microbial biomass in initial and final samples. For both samples, fungal abundance was highly reduced at warmer temperature. Such a deleterious effect of high temperature on fungi was observed by several authors (Rinnan et al., 2007; Frey et al., 2008; Cooper et al., 2011). In contrast, bacterial abundance normalized by SOC content was unaffected by incubation temperature in initial samples whereas temperature tended to decrease bacterial biomass in less degradable C depleted final samples.

Microbial richness and evenness

Overall, both richness and bacterial evenness were higher in final soil samples (see Table 8). Increased bacterial evenness means that the change of trophic resource availability led to the decline of dominant phyla which in turn allowed the emergence of so far poorly represented phyla. Consequently, our results do not necessary imply that some phyla that were present in final samples had been absent in initial samples. It is more likely that the C-poor and less degradable-C environment decreased the relative abundance of copiotrophs microorganisms and as a consequence allowed the development of some phyla above the

method detection limits in final soil samples whereas they were below the detection limit in initial samples. Interestingly, temperature had a negative effect only on both richness and evenness at 35°C in final samples for the bacterial community. The data exhibited more variability and only two sites were available for fungal biomass. The results suggest that temperature and C degradability had little impact on fungal community richness and evenness.

The quality and abundance of the resource had a very important impact on the response to temperature of bacterial biomass, richness and evenness. Indeed, temperature did not negatively influence these parameters in initial samples -or even stimulated bacterial biomass-, whereas bacterial biomass, richness and evenness were decreased at 35°C in final samples where community was more diverse at 4°C and 20°C. This result is in apparent contradiction with theoretical ecology such as the ‘insurance hypothesis’ which assumes an enhanced resistance to environmental stress in highly diverse communities (Yachi and Loreau, 1999). However, Griffiths and Philippot (2012) recently suggested that stability (i.e. resistance and resilience) are governed by soil physical and chemical characteristics through their effect on microbial community composition and physiology. Therefore, these authors suggested that soil stability results from a combination of biotic and abiotic soil characteristics (Griffiths and Philippot, 2012). Here, we hypothesize that the slow depletion of soil organic carbon due to plant exclusion forced microbial communities to evolve, i.e., allowed under-represented phyla to grow while over-represented phyla tended to decrease. This increased microbial evenness and richness. Then, the incubation at 35°C caused the brutal exhaustion of the rare available organic carbon in final samples. This stress was probably sudden enough to lead to a “physiological barrier crossing” for several microorganisms which as a consequence went back under the method detection limits. However, we might recognize that bacterial diversity was affected in both final and initial samples. Therefore, constant high temperature and not the associated C depletion might be the reason for such decrease of bacterial diversity.

Microbial community structure

Bacterial communities were both structured by the trophic resource and by temperature but in our study the trophic resource was the main driver of microbial community structure (see Fig. 18). Our results clearly showed that the quality of the trophic resource (i.e. SOC) strongly influence microbial community response to a temperature stress. The impact of the trophic resource availability on the resistance to heat stress was recently studied by Riah-Anglet et al., (2015) who compared the response to a heat stress in a permanent grassland and a cropped plot differing in nutrients availability. They showed that that the cropped plot which was nutrients and C depleted was less resistant to the heat stress than the permanent grassland (Riah-Anglet et al., 2015), which is in good agreement with our results. Our results suggest a higher vulnerability in a warmer world of soil microbial communities in degraded lands (such as deforested lands, overexploited agricultural field...), where soil organic carbon content is low or where a rapid depletion of the organic carbon content occurs.

Based on Figures 19 and 20 it was apparent that Acidobacteria and Actinobacteria were more abundant in final samples (with less SOC and less degradable SOC) whereas Firmicutes were more abundant in initial samples. We expected that bacteria growing in initial samples would be essentially “copiotrophs” whereas bacteria active in final samples would rather be “oligotrophs” according to that the definitions given by Fierer et al. (2007).

Acidobacteria are environmentally widespread (Barnes et al., 1999). They are slow growing microorganisms and difficult to culture (Ward et al., 2009) and they are regularly considered as oligotrophic organisms (see for example Padmanabhan et al. 2003; Fierer et al., 2007; Pascault et al., 2013). Indeed, Acidobacteria are generally less abundant in soils with higher concentrations of organic carbon (Axelrood et al., 2002; McCaig et al., 1999; Acosta-Martínez et al., 2014), they have been shown to decrease following the addition of dissolved organic matter (Cleveland et al., 2007; Jenkins et al., 2010) and their relative abundance is generally lower in rhizosphere soil than in bulk soil, which could be due to different C availability to microorganisms (Marilley and Aragno, 1999). Dunbar et al., (1999) and McCaig et al., (1999) have suggested that the ratio between Acidobacteria and Proteobacteria increases with trophic status, ranging from 0.16 in an oligotrophic soil to 0.87 in a high-input agricultural soil (Dunbar et al., 1999; McCaig et al., 1999). In our study, these ratio were exponentially correlated with SOC ($r^2 = 0.69$; $p \text{ value} = 1.39 \cdot 10^{-9}$; data not shown) and ranged from 0.01 in most initial samples to 1.31 in the samples from a 79 years bare fallow

experiment incubated at 35°C. Moreover, Acidobacteria are related to the degradation of the recalcitrant carbon fraction, given that these bacterial groups produce enzymes targeted at complex and recalcitrant biopolymers (Ausec et al., 2011) making C biodegradation feasible in soils depleted in labile substrates such as final samples. The higher abundance of Acidobacteria in final samples which have less degradable SOC is therefore in general agreement with the literature.

Despite Fierer et al., (2007) who considered that their “copiotrophs-oligotrophs” classification is not adapted for Actinobacteria as the abundance of these taxa do not vary in a predictable manner with respect to changes in soil C availability (Fierer et al., 2007), others studies found negative effect of manure addition on Actinomycetes (Zhang et al., 2012), that Actinomycetes were more abundant in the conventionally cultivated soil than in the organic matter amended soil (Lundquist et al., 1999), that land-use change (conversion of a native tussock into a cultivated pasture) increased the relative abundance of Actinobacteria (Wakelin et al., 2013), or that Actinomycetes are efficient decomposers of nutrient poor C compounds, are able to degrade complex molecules and exhibit the highest activity when N is limiting in soil (MacKenziem and Quideau, 2010; de Boer et al., 2005; Anderson et al., 2012) suggesting that in some cases Actinobacteria exhibit oligotrophic behavior. Our results are therefore in good agreement with these studies as the relative abundance of Actinobacteria increased in nearly all cases as the organic resource decreased. This trend could be due to the ability of Actinobacteria to develop hyphae (Griffin, 1985) making them able to explore large volumes of soil. Moreover, Actinobacteria are able to degrade cellulose (Lynd et al., 2002), to solubilize lignin (Tuomela et al., 2000) and to degrade senescent fungal hyphae (Lockwood, 1967). However, Actinobacteria are less sensitive to heat shock, which might be related to the spore-forming ability that provides an advantage over other phyla (Hayden et al., 2012) which might confers to them an advantage in final samples which were more exposed to huge temperature variations.

In our study Firmicutes showed the clearest copiotrophic pattern as their relative abundance was 34% – 720% higher in initial samples than final ones and that they were positively correlated to SOC ($r^2= 0,62$; $p\text{ value}= 2,37 \cdot 10^{-13}$). Fierer et al. (2007), consider that Firmicutes cannot be assigned into copiotrophic or oligotrophic categories. Indeed, results are contrasted in the literature. Uroz et al. (2014), using a fertility gradient on marine terraces found that Firmicutes were significantly enriched in the grasslands and soluble organic matter

additions to soils caused a relative increase of Firmicutes (Cleveland et al., 2007), which would give them a copiotrophic character. On the other hand, conversion of a native tussock into a cultivated pasture and the associated loss of soil organic C increased the relative abundance of Firmicutes (Wakelin et al., 2013).

Temperature also appeared to structure soil microbial communities. Among the dominant phyla Actinobacteria was the one responding the more positively to high temperatures (i.e. 35°C). Two explanations can be proposed. First, even in final samples, some readily available organic carbon is likely to remain, but the higher incubation temperature would exhaust it more rapidly, thus favoring the oligotroph Actinobacteria. Second, we cannot exclude a direct effect of temperature on microorganisms as Actinobacteria are less sensitive to heat shock, having a spore-forming ability that provides an advantage over other phyla (Hayden et al., 2012).

Our results also showed shifts in fungal communities. Dominant phyla were Ascomycota, Basidiomycota and Chytridiomycota. While Ascomycota were less represented in carbon depleted soils Basidiomycota increased with carbon depletion. This is in agreement with the literature which showed that Ascomycota have highest relative abundances in live leaves and during the early stages of litter decay when a few basidiomycetes are found (Voriskova and Baldrian, 2013).

The abundance of fungi from the Ascomycota phylum decreases during the process of degradation as they are gradually replaced by fungi from the Basidiomycota phylum during the later stages of decomposition (Frankland, 1998; Osono, 2007). Dominance of Ascomycota in the early stages of litter decay was also demonstrated using metaproteomic approach (Schneider et al., 2012).

Basidiomycetes are able to form mycelial cords (Baldrian, 2008) and are able to proliferate through patches low in nutrients being supported by nutrient transport through mycelial cords (Wells and Boddy, 1995; Wells et al., 1995).

Basidiomycetes are also efficient degraders of recalcitrant organic compounds (lignin and plant cell wall polysaccharides) as they are able to produce a wide array of extracellular enzymes for the utilization of complex nutrients (Baldrian, 2008).

Conclusion

We have demonstrated that soil organic matter decomposability influences soil microbial community allowing the emergence of oligotrophs at the expense of copiotrophs when the decomposability or the trophic resource decreases. This study also showed that a more diverse soil microbial community linked to stable soil organic carbon can be more sensitive to a stress (such as a heat wave) than a less diverse community linked to more labile organic carbon compounds. The microbial community structure modifications caused by temperature increase can have implications for soil C dynamics. However, the influence of microbial community structure on C dynamics is not clear yet, and further studies are needed to assess how microbial community structure modifications would impact C dynamics.

It provides evidence that biodiversity is not the only factor of stability and that stability might be a combination of biotic and abiotic soil characteristics as suggested by Griffiths and Philippot (2012). These results call for further investigations (i) to link together biotic and abiotic factors (such as soil carbon and nutrients content, aggregation, pH, etc...) and (ii) to point out the ecosystems functions which might be impacted by such perturbations.

Chapitre 3: Relation entre âge et stabilité de la MOS.

Lefèvre, R., Barré, P., Schrumpf, M., Trumbore, S., Steinhof, A., Kloetzing, T., van Oort, F., Chenu, C. Is stable soil organic carbon necessarily old? in prep

Romain Lefèvre ^a, Pierre Barré ^b, Marion Schrumpf ^c, Susan Trumbore ^c, Axel Steinhof ^c, Theresa Kloetzing ^c, Folkert van Oort ^d, Claire Chenu ^a

^a Bioemco laboratory, UPMC, CNRS, INRA, AgroParisTech, Campus Grignon, Thiverval-Grignon 78850, France,

^b Laboratoire de Géologie, CNRS-ENS, 24 rue Lhomond, Paris 75005, France,

^c Max Planck Institute for Biogeochemistry, Hans-Knöll-Straße 10, 07745 Jena, Germany

^d Pessac laboratory, INRA, Versailles 78026, France

Abstract

To predict the turnover of soil organic carbon (SOC) in a changing environment is a major challenge for the scientific community. Recent studies highlighted that SOC is not uniformly decomposable and that models should consider to divide SOC into several pools. However it has been shown that labile chemical carbon compounds which have been considered for long as rapid cycling OC can have old ^{14}C ages. Thus the concept of chemical recalcitrance is now challenged for other mechanisms such as OC association with minerals or occlusion within aggregates (Schrumpf et al., 2013).

It has been shown that long-term bare fallow experiments represent a unique platform to study stabilized soil organic carbon (Barré et al., 2010). Furthermore, a recent study shown that the overall organic carbon in soils sampled after 25 up to 79 years of bare fallow treatment is both more stable and more temperature sensitive in accordance with thermodynamic theory (Lefèvre et al., 2014). We aimed to study the radiocarbon distribution in soils which experienced variable bare fallow treatment durations and test the hypothesis that stable organic carbon would be older than non stabilized organic carbon.

To do so, we selected archived soil samples from a bare fallow chronosequence located at Versailles (France). We used soil samples sampled after 0, 10, 20 33, 43, 62 and 79 years of bare fallow and we measured the ^{14}C age of the SOC in the bulk, in the clay fraction and of char particules from the coarse fraction ($>200\mu\text{m}$) using an AMS facility. We also measured the SOC content in the bulk and in the clay fraction.

The data indicate that (i) the mean age of the SOC increases with the bare fallow duration for 62 years and then dramatically decreased (ii) the clay-size fraction stores OC that has a relatively constant and young age and has probably experienced C inputs throught algae growth (iii) the proportion of char particules in the bulk varies greatly along the chronosequence.

Résumé

Etre en mesure de prévoir la dynamique du carbone organique du sol (COS) dans un environnement qui change est un défi majeur pour la communauté scientifique. Des études récentes ont souligné que le COS n'était pas uniformément décomposable et que les modèles devraient diviser le COS en plusieurs compartiments. Cependant, il a été montré que certains composés carbonés chimiquement labiles pouvaient avoir un âge important lors de datation au ^{14}C . Ainsi, le concept de recalcitrance chimique est désormais remise en question au profit d'autres mécanismes comme l'association du COS avec la phase minérale ou encore l'occlusion au sein des agrégats (Schrumpp et al., 2013).

Il a été montré que les essais de jachère nue de longue durée représentent un outil unique pour l'étude de la stabilisation du COS (Barré et al., 2010). De plus, une étude récente a montré que le carbone organique contenu dans des échantillons prélevés après 25 à 79 ans de jachère nue était plus stable et plus sensible à la température, en accord avec la théorie thermodynamique (Lefèvre et al., 2014). Nous avons souhaité étudier l'évolution de la quantité de ^{14}C dans des sols ayant connu une durée de jachère nue variable afin de tester l'hypothèse selon laquelle le carbone organique stable devrait être plus vieux que le carbone non stabilisé.

Pour ce faire, nous avons sélectionné des échantillons d'archives provenant d'une chronoséquence de jachère nue située à Versailles (France). Nous avons utilisé des échantillons prélevés après 0, 10, 20, 33, 43, 62 et 79 ans de jachère nue et nous avons mesuré la teneur en ^{14}C du sol total ainsi que de la fraction $<2\mu\text{m}$ et de particules de charbons prélevés dans la fraction grossière ($>200\mu\text{m}$) grâce à un spectromètre de masse couplé à un accélérateur de particules using. Nous avons également mesuré l'évolution de la teneur en COS dans le sol total et dans la fraction $<2\mu\text{m}$.

Les données indiquent que (i) l'âge moyen du COS augmente avec la durée de jachère pendant 62 ans puis décroît considérablement (ii) la fraction $<2\mu\text{m}$ stocke du carbone d'un âge relativement constant, plutôt jeune et a peut être reçu des entrées de carbone via la croissance d'algues (iii) la proportion de particules de charbons varient beaucoup tout au long de la chronoséquence.

Introduction

Soil organic carbon (SOC) is a key driver of soil fertility and is a potential source/sink of atmospheric carbon dioxide. Therefore, gaining insights on SOC turnover and stocks in the context of climate changes is of major importance (Lal, 2004).

Long-term C3/C4 vegetation changes (Balesdent et al., 1988) showed that soil contains OC with highly contrasted residence time ranging from a few years to a few centuries. Several studies established that OC with short residence time (1-20 years) mostly corresponds to particulate organic matter (POM), which are plant debris at various stages of decomposition with a size higher than 0.05 mm (e.g. Balesdent et al., 1987). Soil organic components can be stabilized at the pluri-decadal time scale because of (i) their intrinsic chemical recalcitrance, (ii) specific interactions with mineral surfaces or (iii) spatial inaccessibility due to physical occlusion within soil aggregates (e.g. Balesdent et al., 2000; Baldock and Skjemstad, 2000; von Lützow et al. 2006). In the last decade, several studies showed that the role of the intrinsic chemical recalcitrance on SOC stabilization is less important than previously believed. Indeed, compound-specific isotopic analyses revealed that intrinsically recalcitrant molecules (plant lipids, lignin...) turned over more rapidly than the bulk of SOC (e.g. Amelung et al., 2008). Moreover, the view of humus as being made of big condensed macro-molecules is increasingly criticized (Piccolo, 2001; Kelleher and Simpson, 2006). The present consensus is that stabilized SOC is mostly made of a mixture of biopolymers such as carbohydrate, protein, lignin, lipid and black (pyrogenic) carbon interacting with the mineral matrix (e.g. Lehmann et al., 2008).

The association of SOC with mineral surfaces especially with iron oxide surfaces has been proposed to be a major control of long-term SOC preservation (Kögel-Knabner et al., 2008) especially for small molecules such as citrate (Jones and Edwards, 1998). In controlled conditions, Kalbitz et al., (2005) showed that mineralization of sorbed OM is 3-6 times lower than soluble with turnover ranging from 37 to 91 years. Chenu and Stotzky (2002) suggested from a review of the literature that small molecules sorbed to mineral surfaces cannot be utilized by microorganisms unless they are desorbed.

Very small microaggregates are also considered as major sites of OM stabilization (Chenu and Plante, 2006, Kögel-Knabner and Amelung, 2014) through OM occlusion and reduction of OM accessibility. Measures of turnover times for carbon located within

aggregates, and presumably protected, show a negative relationship between aggregate size and carbon turnover time (John et al., 2005; Liao et al., 2006) with the highest reported turnover times ranging between 86–476 years in the smallest aggregates <53 μm . Finally, chars (pyrogenic organic C) are also thought to contribute to persistent SOC. Chars are ubiquitous in soils (previous investigations reported the presence of chars in China, United States, Germany and France) and derived essentially from past fire events and industrial activities. Char has been long considered to be almost inert in soils, intact charcoal fragments and other forms of chars being found at depth in soils where SOC residence times exceed thousands of years (Schmidt et al., 2002; Glaser and Amelung, 2003; Preston and Schmidt, 2006). More recent reviews suggest that the persistence of chars in soil may range from just a few centuries to millennia (Masiello, 2004; Singh et al., 2012).

Studies based on radiocarbon measurements showed that some SOC can have stayed in soil for centuries to millennia (e.g. Trumbore, 1997; Jenkinson et al., 2008). It can be hypothesized that stabilized SOC equates old SOC, in other words, that SOC biological stability increases with SOC age. This correspond to the situation where organic molecules gain in chemical recalcitrance with time (i.e. humification theory) or that once stabilized, either by adsorption or by occlusion within soil microaggregates, organic molecules remain stabilized, and thus with time they gain in age. On the other hand, it is now known that physical inaccessibility of organic molecules to microorganisms strongly reduces their decomposition (e.g. Nunan et al., 2007). This process may control the decomposition of organic matter in a random character, and upon structural reorganizations in soil; in such a case old and recent molecules may have the same probability to be decomposed when rendered accessible to microorganisms. In such a view, the relationship between persistence of organic matter and age is not so straightforward.

This study aims at testing the hypothesis that SOC biological stability increases with its age.

Long-Term Bare Fallow (LTBF) experiments are ideal experiments to test this hypothesis. Indeed, such long-term agricultural experiments have been kept free of plants for several decades and C inputs to LTBF soils were kept close to zero during that period while biodegradation still proceeded in LTBF soils. As a result, SOC remaining after a given bare fallow period has been stabilized for at least the duration of this period. As a consequence, LTBF sites provide soils highly enriched in stable SOC in which very little C input may have

influenced SOC ^{14}C signature. To this respect they are the only sites where the hypothesis that stable SOC equates old SOC can be tested. In this study, we used samples collected in the longest bare fallow in the world, the 42-plots experiment located at Versailles (France) that was initiated in 1928. Though highly appropriated to test our hypothesis, the 42-plots experiment may have drawbacks to investigate the link between SOC age and SOC persistence. Indeed, a previous study (Vasilyeva et al., in prep) reported that geological char inputs occurred during the twentieth century. However, char have been quantified through their C/N and $\delta^{13}\text{C}$ signature and have been showed to be located in coarse and light fractions while no inputs were observed in the clay-size fractions (Vasilyeva et al., in prep). Moreover, though very small, a few C inputs may have occurred in LTBF plots by other processes such as atmospheric deposition, algae photosynthesis, or occasional weeds. Due to the important modification of ^{14}C atmospheric signature during the 20th century (bomb effect), such seemingly negligible inputs may influence SOC ^{14}C signature. Keeping these two potential drawbacks in mind, we used samples from the Versailles' long-term bare fallow to test the following hypotheses: (i) the mean age of SOC increases with the bare fallow duration in bulk soil and (ii) the mean age of SOC increases with the bare fallow duration in SOC associated to clay fractions.

Material and Methods

Soil and sampling

Soil samples were obtained from the “42 plots” long-term field experiment, established in 1928 by the Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) in Versailles, France to study the impact of fertilizers and amendments on soil physical properties without the influence of plants (Burgevin and Hénin, 1939). The soil is a silty loam Luvisol (FAO 1989), developed within the aeolian loess covers that characterizes the Paris Basin or Dystric Eutrocept (USA). It is a silt loam soil (26% sand, 59% silt, 15% clay) containing no carbonates. Mean annual temperature is 10.7°C and mean annual rainfall is 628mm (Barré et al., 2010). Previous land use was unmanaged grassland and forest before the 17th century. The experiment comprises 42 plots (2 m × 2.5 m) kept free of plants (bare

fallow) by tilling with a spade to 25 cm twice annually, manually weeding and by herbicide treatment since the 1970s. We studied three reference plots that received no amendment or fertilizer since 1928. Although carbon inputs were not completely absent in the bare fallow due to atmospheric deposition, occurrence of blue–green algae as well as occasional weeds and mosses, these inputs can be considered as negligible.

We used archived soil samples collected from these plots in 1929, 1939, 1949, 1962, 1972, 1991 from 0-25 depth and 0-20 cm in 2008, which had been air-dried after sampling, sieved to 2 mm and stored in hermetically sealed glass jars in the dark at room temperature.

Fractionation

The particle size fraction $< 2 \mu\text{m}$ was isolated from soil using a protocol based on the fractionation scheme of Balesdent et al. (1998). Briefly, 50 g of soil was mechanically dispersed in deionized water using glass beads, then the $< 50 \mu\text{m}$ fraction was separated from the sand size fractions by sieving under water. The $< 50 \mu\text{m}$ suspension was sonicated to achieve full dispersion at a calibrated dispersion energy of 300 J ml^{-1} . The silt- and clay-sized fractions were then separated from each other by repeated use of the pipette method in sedimentation cylinders according to Stoke's law. The clay-sized fraction was then freeze-dried before weighing and analysis.

Char particles were collected with tweezers under binoculars from the coarse particle size fraction ($> 200 \mu\text{m}$) of soil samples from 2008.

Elemental and stable isotopes analysis

Bulk soil samples, clay-size fractions and collected char particles were prepared for elemental analysis using a planetary ball mill (3 min at 500 rpm). C, N were measured simultaneously using a CHN auto-analyzer (NA 1500, Carlo Erba) coupled to a SIRA 10 Isotope Ratio Mass Spectrometer (IRMS, Micromass-GVI) with special triple trap to cryogenically isolate and purify CO_2 .

Radiocarbon analysis

Bulk soil samples and clay-size fractions and char particles were also prepared in order to determine their radiocarbon content. Sample preparation and analyses were performed at the ^{14}C laboratory at Jena, Germany (Steinhof et al., 2004). Samples were weighed into tin capsules and combusted in an elemental analyzer. The resultant CO_2 was transferred into a glass tube cooled by liquid nitrogen and containing an iron catalyst. Reduction of CO_2 to graphite was carried out at 600°C under hydrogen gas atmosphere. The graphite was analyzed by ^{14}C AMS (3MV Tandetron 4130 AMS ^{14}C system: High Voltage Engineering Europe, HVEE, the Netherlands). ^{14}C is expressed as percent modern carbon (pMC) after normalization to $\delta^{13}\text{C}$ (Mook and van der Plicht, 1999).

SOC turnovers and ages and calculation

SOC turnovers were calculated thanks to mass losses assuming a one pool model for SOC (equation 1):

$$C(t) = C_0 \cdot e^{-t/\tau} \quad \text{eq. (1)}$$

With : $C(t)$, the carbon stock at time t , C_0 the initial carbon stock, t the time and τ the SOC turnover.

SOC ages were calculated thanks to radiocarbon ages (equation 2):

$$\text{OC age} = -8033 \cdot \ln(\text{pMC}/100) \quad \text{eq. (2)}$$

With pMC the radiocarbon content expressed as percent modern carbon.

SOC turnover and age in the silt-sand fraction were estimated using equation 1 and the equation 2 and 3 respectively.

$$^{14}\text{C}_{\text{silt-sand}} = (^{14}\text{C}_{\text{bulk}} \cdot \text{OC}_{\text{bulk}} - ^{14}\text{C}_{\text{clay}} \cdot \text{OC}_{\text{clay}} - ^{14}\text{C}_{\text{chars}} \cdot \text{OC}_{\text{chars}}) / (\text{OC}_{\text{silt-sand}}) \quad \text{eq. (3)}$$

Evaluation of the contribution of new C inputs to total SOC during the bare fallow

To evaluate the contribution of C inputs to SOC via algal growth, that may have occurred during the bare fallow experiment, we used the simple Hénin-Dupuis' model (Hénin et Dupuis, 1945). Hénin-Dupuis' model (see equation 4 below) is a simple model of SOC dynamics. In this model, a part $(1-k_1)$ of the carbon input (I) is considered to be respired immediately while the other part (k_1) of the input is considered to enter into the soil organic carbon stock $(C(t))$. The soil organic carbon stock is considered to follow a first order kinetic at a decay rate " k_2 " which is controlled by the mean annual temperature, the clay content and the calcium carbonate content (see equation 5).

$$C(t+1) = C(t) * k_2 + I * k_1 \quad (\text{eq. 4})$$

$$k_2 = 0.03 * ((1 + 0.2 * \text{MAT} - 10)) / ((1 + 0.005 * \text{Clay}) + (1 + 0.0015 * \text{CaCO}_3)) \quad (\text{eq.5})$$

We elaborated three different scenarios of C inputs during the bare fallow experiment (see Table 10) based on (scarce) values of algae photosynthetic productivity in soils found in the literature. Shimmel and Darley (1985) measured soil algae productivity on an experimental field in Georgia, USA. They reported a total annual productivity of 39 gC m^{-2} . We used this value converted in gC kg^{-1} soil and the same value linearly corrected by the mean annual temperature and precipitations at Versailles to set the carbon input (I) from algae. k_1 for algae inputs was set according to values regularly used to predict the dynamics of organic wastes and crop residues on the field and ranged between 0.1 and 0.15 (which means that between 90% and 85% of the organic carbon input was respired within the first year after algal). k_2 was set according to equation 5 and the proper characteristics of the bare fallow and was equal to $0.0185 \text{ years}^{-1}$. Based on literature values, the scenario A is the medium scenario which we consider plausible. Scenario B and C are respectively low and high algal-carbon-input scenario (see Table 10).

| Scenario | A | B | C |
|---------------------------------------|--------|--------|--------|
| Parameter | | | |
| Input I (gC kg ⁻¹ soil) | 0.031 | 0.031 | 0.108 |
| k ₁ | 0.125 | 0.1 | 0.15 |
| k ₂ (years ⁻¹) | 0.0185 | 0.0185 | 0.0185 |

Table 9: Parameters values used for the three scenario of algal carbon incorporation implemented into the Henin-Dupuis' model.

Evaluation of the contribution of C inputs to total SOC during the bare fallow to ¹⁴C signature of SOC

The ¹⁴C signature of atmospheric CO₂ has been monitored during the 20th century. We considered in the simulations that every year algae inputs had the ¹⁴C signature of the atmosphere and that during its decay each yearly input kept its original ¹⁴C signature (no fractionation). We also considered that SOC derived from algae inputs was mostly microbial-derived molecules and should be recovered in clay-size fractions.

Statistical analysis

Mean values of radiocarbon contents in soil, clay-size fractions and char particles were compared using a paired Student t-test. Radiocarbon evolution trends with time were attested thanks to an ANOVA test. All results were considered significant for $P < 0.05$.

Results and discussion

Carbon content evolution with bare fallow duration in bulk soil and clay fractions

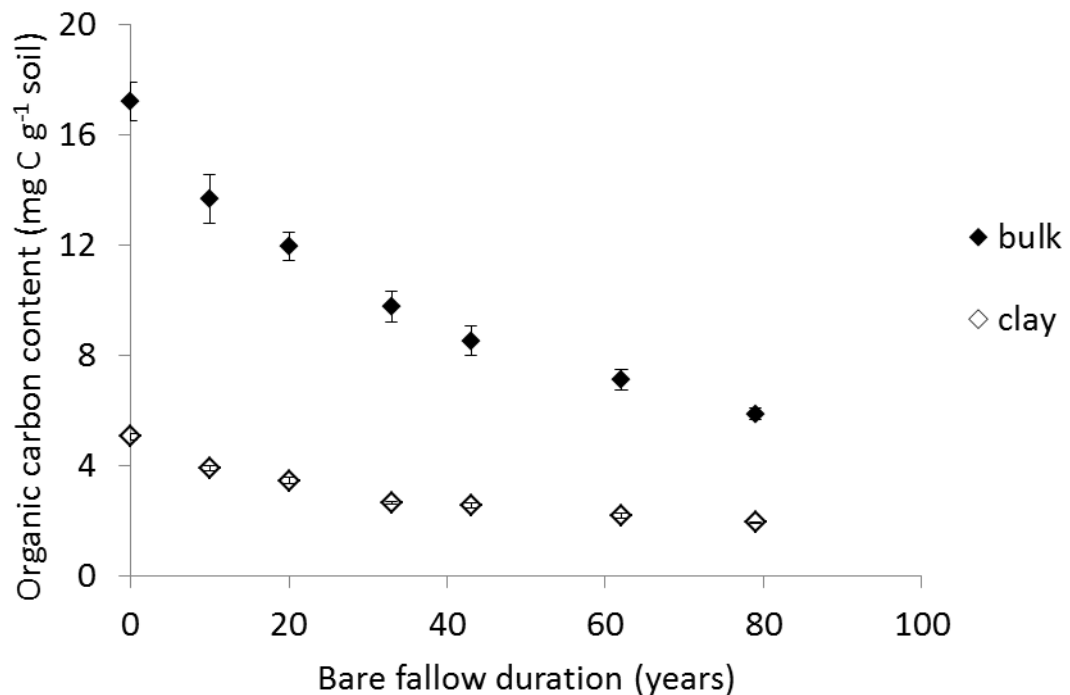


Figure 21 : Evolution of the organic carbon content in the bulk (closed symbols) and in the clay-size fraction (open symbols) with the bare fallow duration.

Source : [Lefèvre et al., (in prep)]

Organic carbon content decreased exponentially (see Fig. 21) with prolonged bare fallow duration in bulk soil ($r^2=0.92$; p value= $2.9 \cdot 10^{-20}$) and in the clay-size fraction ($r^2=0.94$; p value= $1.1 \cdot 10^{-25}$). Organic carbon loss (expressed in percent of the initial organic carbon content) after 79 years of bare fallow was $64.4\% \pm 2.0\%$ in the bulk and $61.6\% \pm 0.7\%$ in the clay size fraction. However, while clay-size fraction is char-free, silt and sand-size fractions contain non-negligible amount of geological chars which introduce a bias in the decay rate of the non-char carbon decay in the silt-sand size fraction (see below).

Char content estimation

| Time | 1929 | 1939 | 1949 | 1961 | 1972 | 1991 | 2008 |
|---|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Bare fallow duration (years) | 0 | 10 | 20 | 32 | 43 | 62 | 79 |
| Char content (g C kg ⁻¹ soil) | 0.49 (0.23) | 0.96 (0.18) | 2.35 (0.41) | 2.01 (0.35) | 2.18 (0.20) | 1.54 (0.21) | 1.43 (0.32) |

Table 10: Estimation of the char content with the bare fallow duration (from Vasilyeva et al. in prep).

Char content varied significantly with bare fallow duration (see Table 11) (ANOVA, p value = $3.7 \cdot 10^{-4}$). Char content exhibited a great increase the first 20 years and then slowly decreased the last 59 years. Between 1949 and 2008, the char content decreased by 39.1%, therefore its associated turnover was 118.8 years. Based on C/N and ¹³C measurements, clay fractions contained negligible amount of char. Taking in consideration these char inputs, SOC losses in the different fractions can be revised. Leaving aside chars, SOC loss in the silt-sand size fractions was equal to $76.5\% \pm 3.5\%$ in about 80 years. Thus, assuming a one-pool C model the turnovers of SOC in the sand-silt fraction (chars having been excluded) and in the clay-size fraction were 54.6 (49.1-60.3) and 82.5 (78.2-87.2) years respectively. It is therefore in general agreement with studies evidencing that SOC stored in the clay-sized fraction had a slower turnover than the SOC stored in other fractions.

Radiocarbon contents

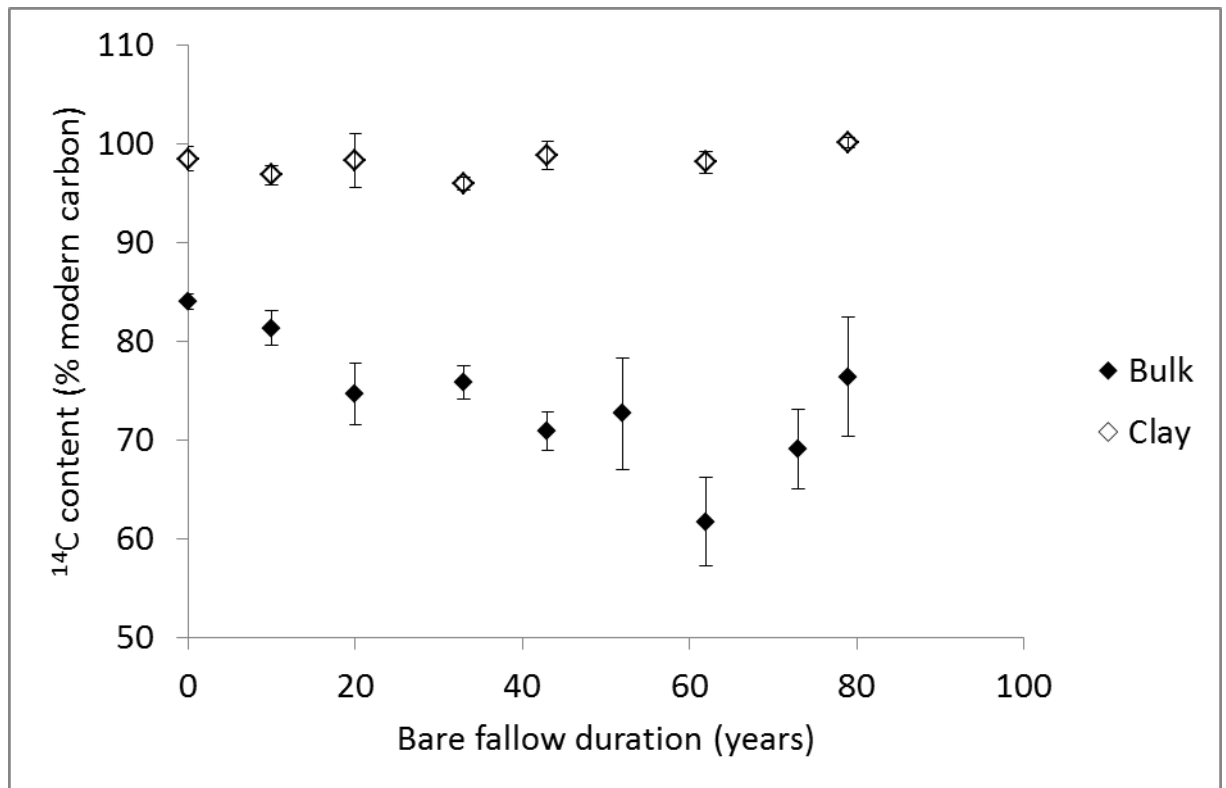


Figure 22 : Evolution of the radiocarbon content in the bulk (closed symbols) and in the clay-size fraction (open symbols) with the bare fallow duration.

Source : [Lefèvre et al., (in prep)]

Figure 22 shows the radiocarbon content in the bulk and clay-size fractions at each sampling date. We observed a poorly significant radiocarbon content decrease in the bulk soil ($r^2=0.13$; p value= 0,049). The later trend was only slightly significant because the mean radiocarbon content exhibited two phases along the chronosequence. Indeed, the radiocarbon content progressively decreased from the beginning of the experiment for 62 years and then dramatically increased during the last 17 years of the chronosequence. SOC in the clay size fraction exhibited no clear variations in its radiocarbon content (p value= 0.23). Mean radiocarbon content in the clay-size fraction along the chronosequence was 98.04 ± 0.52 pMC corresponding to a mean turnover of 159 (116 – 202) years. The mean SOC turnover time in bulk soil as calculated by radiocarbon measurement varied from 1400 (1324-1476) years at

the start of the experiment to 3881 (3320-4485) years in 1991. This higher value is due to the significant amount of char having a very low ^{14}C signature in these soils. Indeed, radiocarbon content of char isolated from plots sampled in 2008 was 6.74 (\pm 5.86) pMC. The large error on this value is likely due to a contamination with modern carbon (fine roots, sorbed molecules, etc...) in char particles pores. However, according to this value char particles age in the bare fallow plots was at least 21,662 (16,637- 37,999) years. We can therefore conclude that these char particles are geological chars.

It is noteworthy that, two plots out of three showed a clear soil organic carbon ageing (data not shown) during the first twenty years and then came back to greater radiocarbon content values. We hypothesize that this increase results from a carbon input from autotrophs organisms (e.g. algae or cyanobacteria) and develop this hypothesis below.

Evolution of the age of non-char SOC with bare fallow duration

The presence of char in the soil may strongly affect the measured age of SOC on this soil. We tried to get rid of this influence of char on SOC age by calculating the radiocarbon ages of non-char and non-char sand and silt-size fractions. We assumed a constant radiocarbon age for char particles of 6.74 pMC (Table 12). The radiocarbon contents we estimated from the data for the non-char fraction and the silt-sand size fraction showed no reasonable pattern along the chronosequence and exhibited clear out-layers especially for soils sampled in 1991 (Table 12). The radiocarbon ages calculated for non-char SOC remained surprisingly high. We may have under-estimated the the char content in bare fallow soils which would explain these low ^{14}C values. Subsamples (~a few mg) on which ^{14}C measurements were conducted might also have been enriched in char in some cases which would explain the high radiocarbon C ages of SOC although systematic char enrichment is unlikely.

| | | Time | | | | | | |
|--------------|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
| | | 1929 | 1939 | 1949 | 1962 | 1972 | 1991 | 2008 |
| | Bulk | 84.01 | 81.31 | 74.67 | 75.86 | 70.85 | 61.68 | 76.36 |
| 2 | Chars | 6.74 | 6.74 | 6.74 | 6.74 | 6.74 | 6.74 | 6.74 |
| compartments | Non-chars [#] | 86.08 | 86.55 | 90.27 | 94.03 | 90.06 | 73.93 | 95.47 |
| | Chars | 6.74 | 6.74 | 6.74 | 6.74 | 6.74 | 6.74 | 6.74 |
| 3 | Non-chars clay-size fraction | 98.42 | 96.81 | 98.22 | 95.90 | 98.74 | 98.10 | 100.10 |
| compartments | Non-chars silt-sand size fraction [#] | 81.33 | 82.43 | 86.19 | 93.04 | 85.31 | 62.64 | 92.73 |

Table 11: Radiocarbon content expressed as percent of modern carbon (pMC) in the bulk and radiocarbon partitioning in a 2 compartments model (chars and non-chars) and in a 3 compartments model (chars, non-chars clay-size fraction and non-chars silt-sand size fraction). #: estimated values from the data.

Possible contribution of algae to the ¹⁴C content of soils

Two sources of error may play on SOC ages: (i) a poorly constrained char amount as discussed above and (ii) inputs of ¹⁴C enriched modern compounds. To evaluate the potential impact of the inputs of ¹⁴C enriched modern compounds, we focused on clay-size fractions in which geologic char content is negligible. We suspect that biocrusts observed from time to time at the surface of bare fallow plots may have resulted in inputs of ¹⁴C enriched modern compounds that may play on SOC ¹⁴C signature. To test this hypothesis we ran the Hénin-

Dupuis' model on bare fallow plots using three different scenario of inputs (presented in Table 11) and considering that all humified inputs are found in the clay-size fraction. The Figure 23 presents the ^{14}C content of SOC in clay-size fractions according the three scenarii.

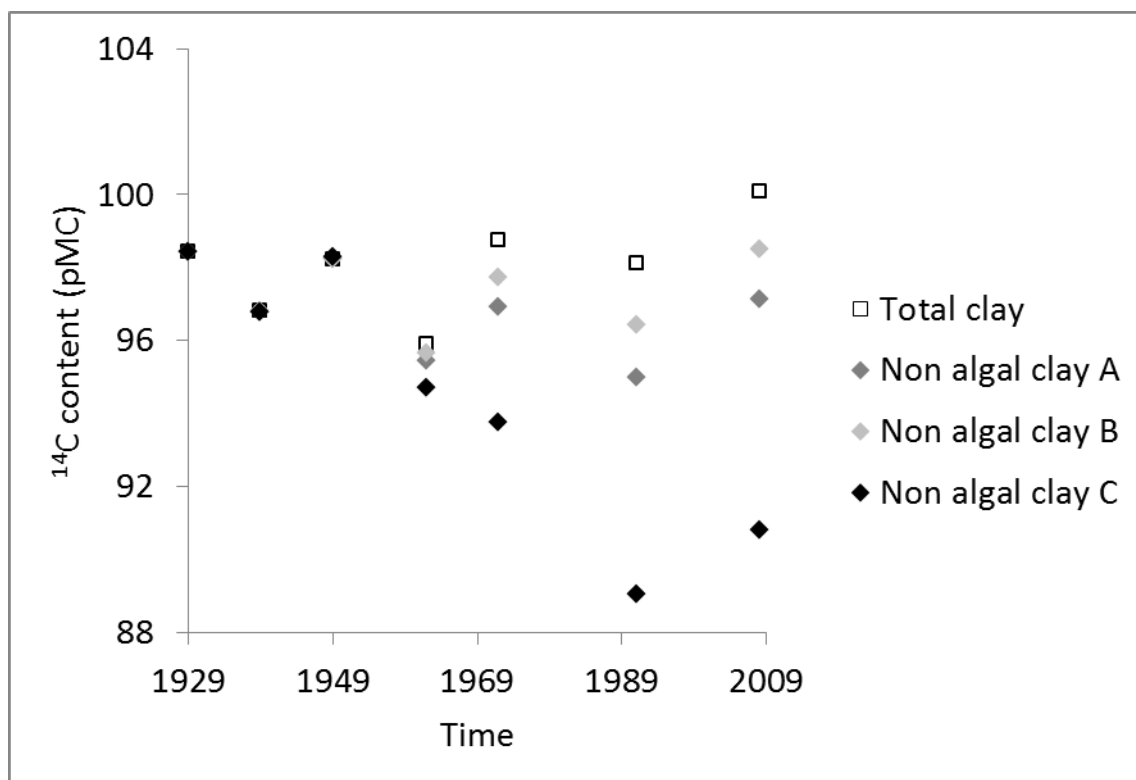


Figure 23 : Simulation of the potential non-algal carbon ageing in the clay size fraction through three different scenario of algal carbon input. Total clay represents the measured ^{14}C content.

Source : [Lefèvre et al., (in prep)]

According to the simulations, the amount of carbon in the clay-size fraction which derived from algal biomass ranged between 7% and 41% of the total carbon in the clay-size fraction in 2008. For the scenario A, designed as the realistic scenario (Shimmel and Darley, 1985), the proportion of carbon in the clay-size fraction which derived from algal biomass was 14% in 2008. The radiocarbon content of the non-algal fraction was 97.13 pMC in 2008 which corresponds to a radiocarbon age of 167 years which was slightly higher than the SOC radiocarbon age at the beginning of the experiment (128 years). For scenario B and C the

radiocarbon content of the non algal fraction ranged between 90.79 and 98.51 respectively and its age was 86 and 554 years respectively.

The results show that due to the high ^{14}C content in the atmosphere in the 60s and 70s, even small amounts of ^{14}C enriched inputs may play on SOC radiocarbon age. If we consider that 10% of SOC in the clay-size fractions derived from C inputs during the bare fallow period (which would represent less than 5% of total SOC), it may hide a small but significant increase in ^{14}C age of SOC with bare fallow duration. However, the data on the amount of C that can enter the soil following algae or cyanobacteria activities are little documented which impedes estimating accurately the inputs of C during the bare fallow.

Conclusion

We hypothesized that SOC biological stability increases with its age and we tested the hypothesis that the mean age of the soil organic carbon increases with the bare fallow duration in bulk soil and in the organic carbon associated to the clay-size fraction. Our results show that the use of Versailles' LTBF experiment samples, which were potentially the most appropriate existing samples to test this hypothesis, did not bring a proper answer. Two important issues prevented to obtain ^{14}C results easy to interpret: (i) the presence and quantification of char particles; (ii) the quantification and residence time of the small C inputs enriched in ^{14}C via algal photosynthesis that occurred during the bare fallow. We suggest that analyzing samples originating from the other LTBF sites, in which char content are lower, may help determining whether persistent SOC is old SOC.

Conclusion générale et perspectives.

L'objectif de cette thèse était d'étudier la dynamique de la matière organique des sols stable à l'échelle pluri-décennale et sa vulnérabilité au changement climatique, notamment à une élévation de température. Par extension, il s'agit de comprendre les mécanismes permettant la stabilisation de cette matière organique et d'étudier leur efficacité sur des périodes allant de l'année au millénaire. Cette thèse a bénéficié d'un matériel d'étude unique : les collections d'échantillons de sols archivés provenant de quatre essais de jachère nue de longue durée européens. Plus en détails, ce projet de thèse visait à étudier :

- la sensibilité à la température de la fonction de minéralisation de la matière organique du sol stable à l'échelle pluri-décennale,
- la structure des communautés microbiennes du sol liées au carbone organique du sol stable à l'échelle pluri-décennale et l'effet de la température sur ces communautés,
- le lien potentiel entre la stabilité de la matière organique son âge.

La fonction de minéralisation de la matière organique stable à l'échelle pluri-décennale contenue dans les échantillons finaux des essais de jachère nue de longue durée est-elle plus sensible à la température ?

Le premier chapitre de cette thèse visait à étudier la sensibilité à la température de la minéralisation de la MOS stable à l'échelle pluri-décennale. Ce chapitre reposait sur l'utilisation d'échantillons provenant de quatre essais de jachère nue de longue durée européens prélevés en début d'essai et après plusieurs décennies de jachère. Ces échantillons ont été incubés à 4°C, 12°C, 20°C ou 35°C pendant 427 jours, période pendant laquelle la respiration de ces échantillons a régulièrement été mesurée à l'aide d'un micro-chromatographe en phase gazeuse.

Ce chapitre comporte deux particularités notables qui font l'originalité de ce travail :

- l'utilisation d'échantillons d'essais de jachère nue de longue durée qui permet d'isoler, sans recours aux méthodes chimiques, une MOS incorporée au sol depuis plusieurs décennies voire plusieurs siècles
- l'expression de la sensibilité à la température par la loi d'Arrhenius et l'une de ses composantes : l'énergie d'activation qui se veut plus mécaniste que l'indice du Q_{10} .

Ce chapitre a mis en évidence une corrélation entre la vitesse de minéralisation et l'énergie d'activation de la réaction de minéralisation. Les données, mises en parallèle aux données d'une étude récente de Craine et al. (2010), suggèrent que la relation proposée est généralisable et devrait être affinée puis incorporée aux modèles courants simulant la dynamique du carbone du sol. De plus, si ce chapitre ne remet pas en cause l'importance de la récalcitrance chimique, il souligne que le principal mécanisme générant la stabilité de la MOS des échantillons utilisés doit être l'interaction de la MOS avec la matrice minérale. De manière intéressante, les données de Craine et al. et celles de notre étude ont montré des profils similaires bien que l'humidité des échantillons de Craine et al. ait été bien plus faible. Le manque d'accès à la ressource en eau pour les microorganismes du sol pourrait donc avoir un impact similaire à celui d'une augmentation de la récalcitrance ou à d'une adsorption de la MOS sur les argiles sur la sensibilité à la température.

Dès lors, et même si la loi d'Arrhenius et l'énergie d'activation qui en découle n'ont pas été établies à l'origine pour le processus de minéralisation de la MOS, ensemble de très nombreuses réactions chimiques, il est envisageable d'utiliser couramment cette loi pour traduire la sensibilité à la température et comme cadre de réflexion pour l'étude des mécanismes responsables du pattern de sensibilité à la température de la minéralisation de la MOS. Dans ce cadre de réflexion, il pourrait à l'avenir être envisageable d'utiliser le facteur pré-exponentiel A de l'équation d'Arrhenius comme un proxy pour la disponibilité en substrat et l'énergie d'activation comme la quantité d'énergie à apporter au système pour rendre disponible ce substrat puis le métaboliser. On pourrait alors travailler, à l'instar de disciplines comme l'enzymologie, selon un cadre de référence où chaque composé ou mélange de composés en solution à une concentration de référence comporte son énergie d'activation intrinsèque. La disponibilité et l'énergie d'activation de ce composé ou de ce mélange de composés se verraient ensuite modulées par différents mécanismes. Dans le cas de

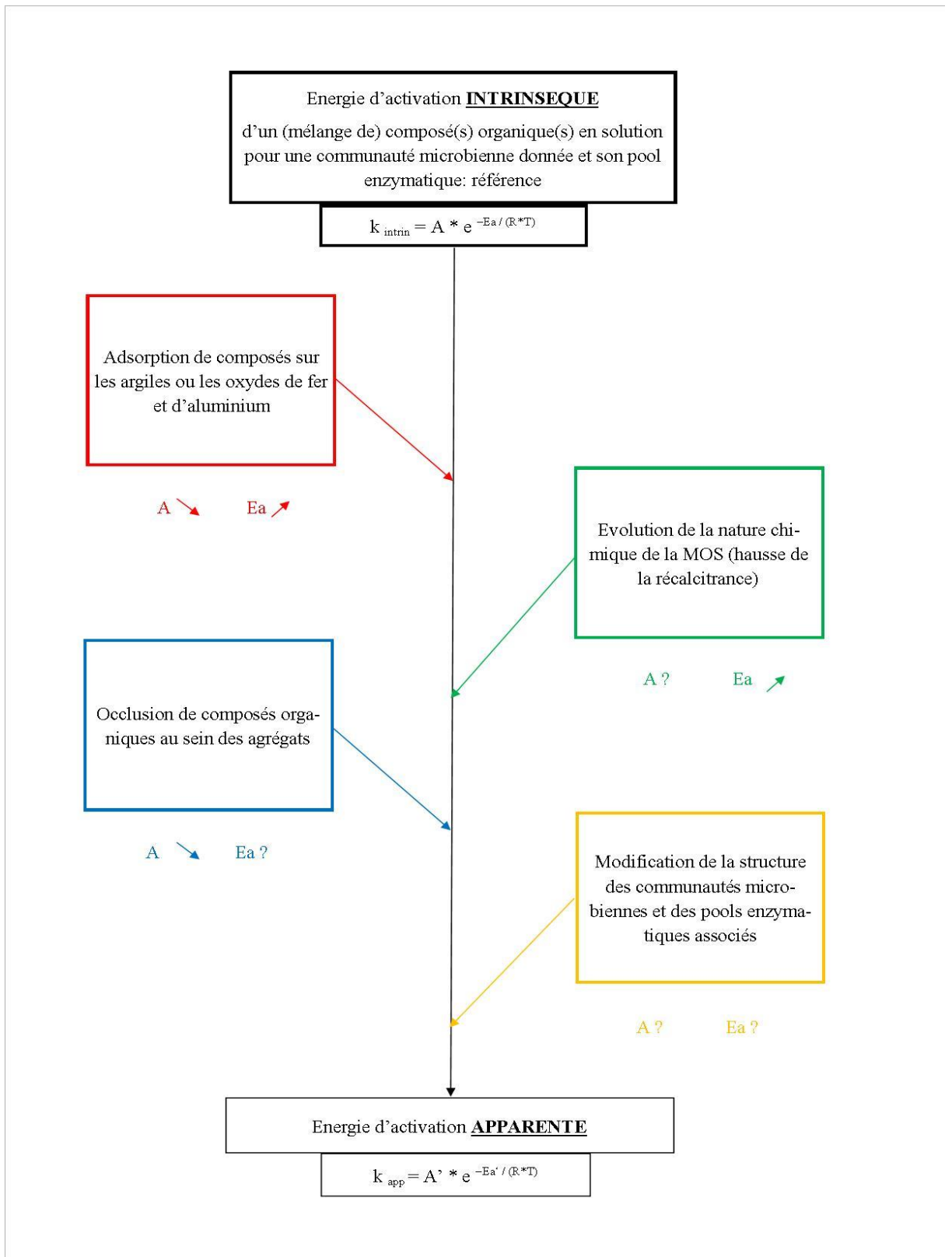


Figure 24 : Cadre de travail possible pour la compréhension des mécanismes influençant la vitesse de minéralisation de la MOS et sa sensibilité à la température à travers l'équation d'Arrhenius.

Source : [Romain Lefèvre]

l'adsorption sur des argiles (voir Fig. 24), l'adsorption du composé lié aux argiles par une liaison chimique pourrait induire une baisse de sa disponibilité (ou du facteur A) et une hausse de son énergie d'activation dans la mesure ou avant d'être métabolisé, de l'énergie devra préalablement être fournie pour que ce composé soit désorbé.

Il est toutefois nécessaire, dans le cadre des perspectives de ce travail, de garder à l'esprit que les mécanismes potentiels proposés (voir Fig. 24) n'ont sûrement pas que des effets simples mais peuvent également avoir des effets qui interagissent. En effet, Enell et al. 2005 ont montré par exemple que l'énergie de liaison entre les composés organiques et la fraction minérale du sol est proportionnelle au poids moléculaire des composés organiques sorbés. Les mécanismes d'adsorption et de récalcitrance pourraient donc avoir des effets croisés.

Quelles communautés microbiennes sont-elles liées au carbone organique stable et quelle est leur réponse à la température ?

Le second chapitre de cette thèse, réalisé en collaboration avec la plateforme GenoSol de Dijon, visait à caractériser les communautés microbiennes liées au carbone organique stable dans les échantillons issus des jachères nues et de les comparer avec les communautés des mêmes sols prélevés au début de chaque essai. Il était ensuite question de savoir si la structure de ces communautés est sensible à la température. A l'issue de l'incubation de 427 jours les communautés microbiennes des échantillons incubés à 4°C, 20°C et 35°C ont donc été analysées.

Là encore ce travail a son originalité. En l'occurrence, si l'analyse des communautés microbiennes du sol se développe depuis plusieurs années cela n'avait jamais (à notre connaissance) été réalisé sur des échantillons issus d'essai de jachère de longue durée incubés à différentes températures. Ce travail se démarque donc dans les thématiques de l'effet de la disponibilité de la ressource trophique sur les communautés microbiennes et de l'effet de cette ressource sur la sensibilité des communautés.

Ce travail a permis de montrer que si la biomasse microbienne estimée par l'ADN extrait des échantillons est plus faible dans les échantillons appauvris en carbone organique,

les composantes de la diversité (ici la richesse et l'équitabilité des communautés) se trouvent quant à elles favorisées par la raréfaction de la ressource trophique. Toutefois, si la diversité augmente lors de la raréfaction de la ressource trophique, la sensibilité à la température de ces communautés s'en trouve également augmentée rendant ces communautés plus vulnérables au changement climatique.

Ce travail a également mis en lumière que la raréfaction de la ressource trophique entraîne de profonds remaniements dans la structure des communautés microbiennes. Ces communautés microbiennes, étudiées au niveau du phylum, ont en effet vu l'abondance de certains de leurs membres diminuer ou augmenter. Ainsi si les Firmicutes ont souffert de la baisse de la teneur en carbone organique du sol, d'autres phyla comme Acidobacteria ou Actinobacteria ont pu tirer avantage de la raréfaction de la ressource.

Enfin, ce travail souligne également la différence de sensibilité à la raréfaction de la ressource trophique entre des organismes très dépendants de leur environnement immédiat (comme la plupart des bactéries) et les organismes capables de prospector un volume de sol plus important (comme les champignons ou les Actinobacteria) et donc mieux à même de palier à une raréfaction ponctuelle de la ressource.

Ce travail se situait donc à l'interface de l'écologie microbienne et fonctionnelle. En perspectives de ce travail on ne pourra donc qu'encourager de nouveaux efforts pour la compréhension de l'impact de l'environnement sur les microorganismes mais aussi en retour sur l'impact de modifications des communautés microbiennes sur les fonctions écosystémiques (émissions de gaz à effet de serre, recyclage des nutriments, qualité de l'eau,...).

Certains travaux vont déjà dans ce sens et une partie au moins a été synthétisée (voir Fig. 25) dans un article récent de Tveit et al. (2013). Ces travaux sont aujourd'hui à même de montrer l'importance de certains groupes-clés dans les fonctions de dégradation de certains composés organiques du sol mais doivent être affinés à d'autres fonctions. Il est également notable que cette synthèse s'intéresse à des sols de tourbières, l'importance de certains phyla pour la dégradation de certains composés pourrait être différente dans le cas d'associations organo-minérales.

Une autre étude récente de Riah-Anglet et al., (2015) qui a comparé la réponse à la chaleur de communautés microbiennes de prairies et de sols cultivés dont la disponibilité en nutriments différaient. Cette étude a montré que la communauté du sol cultivé, appauvri en carbone et en nutriments, était moins résistante au stress que la communauté de prairie (Riah-Anglet et al., 2015), ce qui est en accord avec les résultats obtenus lors de cette thèse.

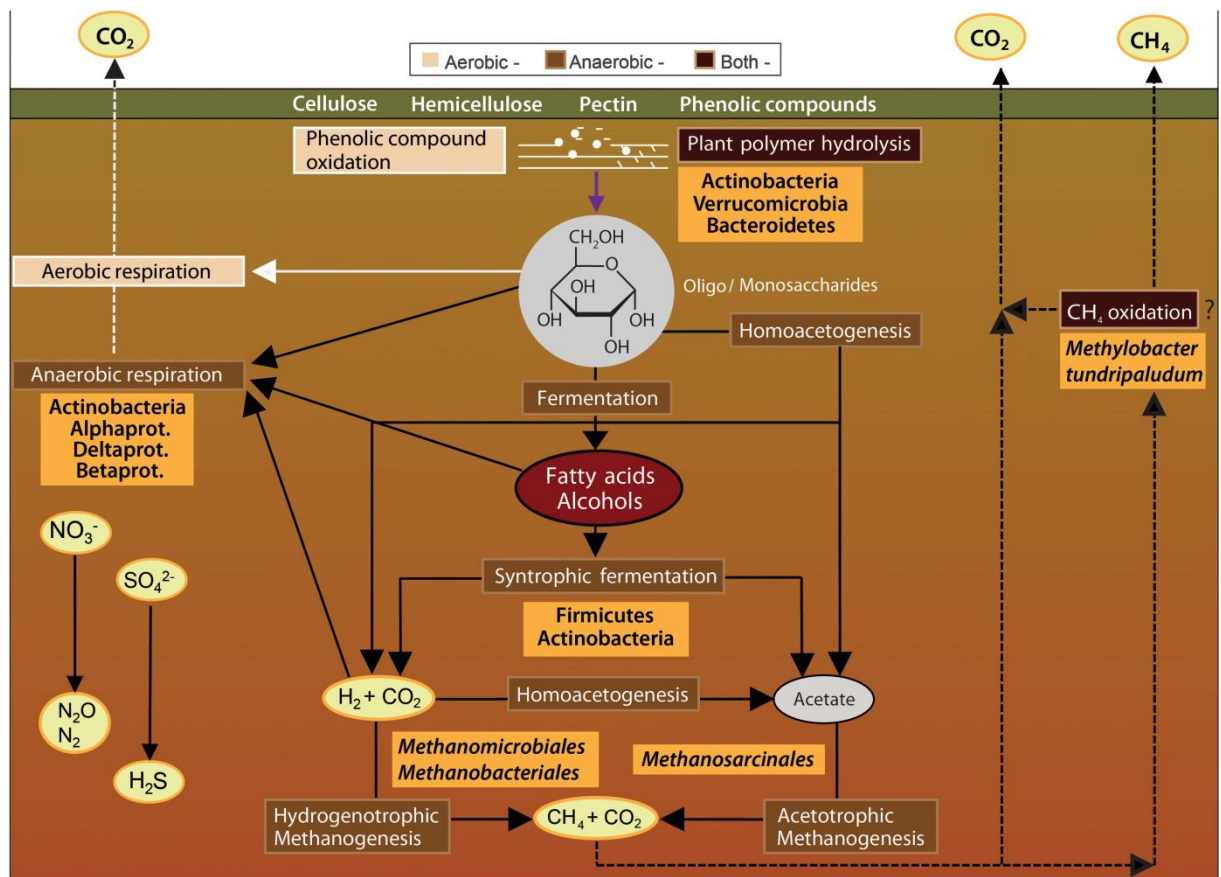


Figure 25 : Schéma des principales voies de dégradation de polymères végétaux dans les tourbières hautes -arctique de Svalbard.

Source : [Tveit et al. 2013]

Or, la modification de la structure des communautés microbiennes provoquée par une hausse de la température peut avoir un impact potentiel sur la dynamique du cycle du carbone et des nutriments. Il a en effet déjà été suggéré que certains phyla retrouvés dans notre étude pouvaient être liés aux cycles de l'azote et du phosphore. Les Actinobacteria pourraient par

exemple jouer un rôle clé dans le cycle du phosphore, comme montré dans des essais fertilisés au phosphore (Wakelin et al., 2012; Sapp et al., 2015). Les Proteobacteria pourraient être déterminant dans les cycles du carbone et de l'azote et comporter notamment en leur sein beaucoup de fixateurs d'azote atmosphérique (Kerster et al., 2006; Acosta-Martínez et al., 2008). Enfin les bactéries oxydant les nitrites sont très bien représentées dans les classes α , β , γ , and δ classes des Proteobactéries (Attard et al., 2010).

Le carbone organique stable du sol est-il nécessairement vieux ?

Ce troisième et dernier chapitre, réalisé en collaboration avec le département Processus du Max Planck Institute de Jena, visait à établir si un lien entre décomposabilité et âge de la MOS existe.

Pour ce faire, des échantillons de l'essai de jachère nue de longue de Versailles ont été utilisés. En plus des échantillons totaux ainsi que la fraction de la taille des argiles récents et de début d'essai, des échantillons provenant de cinq dates intermédiaires ont été analysés avec un spectromètre de masse couplé à un accélérateur de particules afin de déterminer la teneur en ^{14}C de la MOS.

Cette technique permet en effet de donner un âge moyen à la MOS d'un échantillon. L'hypothèse de départ était que du fait de sa décomposabilité, la MOS stable reste plus longtemps dans le sol et est donc par conséquent plus vieille. Il était donc attendu que l'âge moyen de la MOS devait augmenter au fur et à mesure que la proportion de MOS stable augmentait au sein des échantillons (i.e. au fur et à mesure que la durée de l'essai augmentait).

Ces analyses n'ont malheureusement pas permis de répondre à la question posée. En effet, si l'âge moyen du carbone organique total varie le long de la chronoséquence analysée, il semblerait que cette variation soit en grande partie attribuable à une contribution variable de charbons géologiques (voir Figure 26). Ces derniers ont pu être apportés sur et pendant l'essai puis être partiellement érodés ou minéralisés.

De plus, si l'âge de la MOS contenue dans les fractions de la taille des argiles analysées ne varie pas ou peu, il est possible qu'un vieillissement de la MOS ait été « masqué » par une entrée de carbone frais pendant la durée de l'essai. En effet, on retrouve parfois à la

surface des parcelles en jachère nue de petits tapis de mousses et d'algues (voir Figure 27) qui ont pu fixer le carbone atmosphérique riche en ^{14}C depuis les essais nucléaires de la fin des années 1950.

En perspectives de ce travail il convient donc de proposer l'analyse des autres sites qui ne comportent peut être pas de charbons géologiques et n'ont pas connu de colonisation par les algues. La teneur en ^{14}C revenant progressivement à sa valeur de la première moitié du XXème siècle, il serait peut être également intéressant d'étudier d'autres sites de jachères nues que ceux recensés par Barré et al. (2010) et notamment des sites initiés plus tard que ceux utilisés dans le cadre de cette thèse comme celui d'Ibaraki au Japon qui a été initié en 2004 (voir Wagai et al., 2013). Ainsi, une fixation de carbone atmosphérique ne serait peut-être pas suffisante pour « masquer » le vieillissement potentiel de la MOS.



Figure 26 : Photographie de la fraction >2mm d'un échantillon de sol provenant de l'essai de jachère nue de longue durée de Versailles

Source : [Romain Lefèvre]



Figure 27 : Photographie de la surface d'une parcelle de jachère nue de longue durée de Versailles. Des développements d'algues (en vert) y sont visibles.

Source : [Claire Chenu]

Synthèse des perspectives

Ma thèse utilisant des échantillons uniques et pertinents pour étudier la dynamique du C dans les sols à l'aide de techniques de pointe (pyroséquençage, quantification du ^{14}C) a donc fourni plusieurs résultats importants : généralisation du lien entre le taux de minéralisation du C et sa sensibilité à la température, sensibilité accrue des communautés microbiennes à une perturbation lorsque la ressource est de moins bonne qualité, mise en évidence des difficultés à obtenir des résultats interprétables à l'aide du ^{14}C dans de nombreux sites.

Il a également permis de mettre en évidence ou de confirmer certains verrous scientifiques dans notre compréhension de la dynamique du C dans les sols parmi lesquels :

- Comment avoir une compréhension mécaniste de la sensibilité à la température de la minéralisation du C du sol ?

- Si la qualité et la quantité de la ressource jouent sur la structure des communautés microbiennes, celle-ci joue-t-elle en retour sur la dynamique de la ressource ?

- Si oui, cet effet est-il homogène à tous les composés organiques, ou certaines fonctions de dégradation sont-elles plus impactées que d'autres ?

- Le C persistant dans le sol est probablement du C vieux mais comment le mettre en évidence ?

L'effort de recherche à mener pour lever ces verrous constitue des perspectives riches qui devront sans doute être menées conjointement sur des systèmes modèles au laboratoire, des systèmes plus réalistes mais simplifiés (essais de jachère nue) et des expériences de terrain en conditions « naturelles ».

Bibliographie

Aciego Pietri, J.C., Brookes, P.C. (2009) Substrate inputs and pH as factors controlling microbial biomass, activity and community structure in an arable soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 41, 1396-1405.

Acosta-Martínez, V., Cruz, L., Sotomayor-Ramírez, D., Pérez-Alegria, L. (2007) Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. *Applied Soil Ecology*, 35, 35-45.

Acosta-Martínez, V., Dowd, S.E., Sun, Y., et al. (2008) Tag-encoded pyrosequencing analysis of bacterial diversity in a single soil type as affected by management and land use. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 2762–2770.

Acosta-Martínez, V., Cotton, J., Gardner, T., Moore-Kucera, J., Zak, J., Wester, D., Cox, S. (2014) Predominant bacterial and fungal assemblages in agricultural soils during a record drought/heat wave and linkages to enzyme activities of biogeochemical cycling. *Applied Soil Ecology*, 84, 69–82.

Agro-Transfert R&T, Chambres d'Agriculture de Picardie (2007). *Mémento Sols et Matières Organiques*. 50 p.

Allison, V.J., Condon, L.M., Peltzer, D.A., Richardson, S.J., Turner, B.L. (2007) Change in enzyme activities and soil microbial community composition along carbon and nutrient gradients at the Franz Josef chronosequence, New Zealand. *Soil Biology and Biochemistry*, 39, 1770-1781.

Allison, S.D., Martiny, J.B.H. (2008) Resistance, resilience and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Science*, 105, 11512-11519.

Amelung, W., Brodowski, S., Sandhage-Hofmann, A., Bol, R. (2008) Combining biomarker with stable isotope analyses for assessing the transformation and turnover of soil organic matter. *Advances in Agronomy*, 100, 155–250.

Anderson, I., Abt, B., Lykidis, A., Klenk, H-P., Kyrpides, N., et al. (2012) Genomics of Aerobic Cellulose Utilization Systems in Actinobacteria. *PLoS ONE* 7(6): e39331. doi:10.1371/journal.pone.0039331

Attard, E., Poly, F., Commeaux, C., Laurent, F., Terada, A., Smets, B.F., Recous, S., Le Roux, X. (2014) Shifts between Nitrospira- and Nitrobacter-like nitrite oxidizers underlie the response of soil potential nitrite oxidation to changes in tillage practices. *Environmental Microbiology*, 12(2), 315–326.

Ausec, L., van Elsas, J.D., Mandic-Mulec, I. (2011) Two- and three-domain bacterial laccase-like genes are present in drained peat soils. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 975-983.

Axelrod, P.E., Chow, M.L., Radomski, C. C., McDermott, J. M., Davies, J. (2002) Molecular characterization of bacterial diversity from British Columbia forest soils subjected to disturbance. *Canadian Journal of Microbiology* 48:655–674.

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

Balabane, M., Plante, A.F., (2004) Aggregation and carbon storage in silty soil using physical fractionation techniques. *European Journal of Soil Science* 55(2), 415-427.

Baldock, J.A., Skjemstad, J.O., (2000) Role of the soil matrix and minerals in protecting natural organic materials against biological attack. *Organic Geochemistry* 31, 697-710.

Baldrian, P. (2008) Wood-inhabiting ligninolytic basidiomycetes in soils: Ecology and constraints for applicability in bioremediation. *Fungal Ecology I*, 4-12.

Balesdent, J., Mariotti, A., Guillet, B. (1987) Natural ¹³C abundance as a tracer for studies of soil organic matter dynamics. *Soil Biology and Biochemistry*, 19 (1), 25-30.

Balesdent, J., Wagner, G.H., Mariotti, A., (1988) Soil organic matter turnover in long term field experiments as revealed by carbon-13 natural abundance. *Soil Science Society of America Journal* 52, 118-124.

Balesdent, J., (1996) The significance of organic separates to carbon dynamics and its modelling in some cultivated soils. *European Journal of Soil Science* 47, 485-494.

Balesdent, J., Mariotti, A., (1996) Measurement of soil organic matter turnover using ¹³C natural abundance. In: J.W. Boutton, S.I. Yamakasi (Eds.), *Mass spectrometry of soils*. Marcel Dekker, New York, USA, pp. 83-111.

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

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

Barns, S.M., Takala, S.L., Kuske, C.R. (1999) Wide Distribution and Diversity of Members of the Bacterial Kingdom Acidobacterium in the Environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 65 (4), 1731–1737.

Barré, P., Eglin, T., Christensen, B.T., Ciais, P., Houot, S., Kätterer, T., van Oort, F., Peylin, P., Poulton, R., Romanenkov, V., Chenu, C. (2010) Quantifying and isolating stable soil organic carbon using long-term bare fallow experiments. *Biogeosciences*, 7, 1–12.

Bastida, F., Kandeler, E., Moreno, J.L., Ros, M., Garcia, C., Hernandez, T. (2008) Application of fresh and composted organic wastes modifies structure, size and activity of soil microbial community under semiarid climate. *Applied Soil Ecology*, 40, 318-329.

Baumann, K., Marschner, P., Sernik, R.J., Baldock, J.A. (2009) Residue chemistry and microbial community structure during decomposition of eucalyptus, wheat and vetch residues. *Soil Biology and Biochemistry*, 41, 1966-1975.

Benito, P., Lavelle, P., Lavelle, P., Mudgal, S., Van der Putten, W.H., Ruiz, N., De Toni, A., Turbé, A. (2010) Soil biodiversity: functions, threats and tools for policy makers: Final report, European Commission, p. 3-15.

Blagodatskaya, E.V., Anderson, T-H. (1998) Interactive effects of pH and substrate quality on the fungal-to-bacterial ratio and qCO₂ of microbial communities in forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 10/11, 1269-1274.

Boddy, E., Roberts, P., Hill, P.W., Farrar, J., Jones, D.L. (2008) Turnover of low molecular weight dissolved organic C (DOC) and microbial C exhibit different temperature sensitivities in Arctic tundra soils. *Soil Biology and Biochemistry* 40(7):1557–1566.

Bol R, Bolger T, Cully R, Little D (2003) Recalcitrant soil organic materials mineralize more efficiently at higher temperatures. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 166(3):300–307.

Bol, R., Ostle, N.J., Chenu, C., Petzke, K.J., Werner, R.A., Balesdent, J. (2004) Long term changes in the distribution and delta N-15 values of individual soil amino acids in the absence of plant and fertiliser inputs. *Isotopes in Environmental and Health Studies* 40(4), 243-256.

Börjesson, G., Menichetti, L., Kirchmann, H., Kätterer, T. (2012) Soil microbial community structure affected by 53 years of nitrogen fertilisation and different organic amendments. *Biology and Fertility of Soils* 48, 245–257.

Bosatta, E., Ågren, G.I. (1999) Soil organic matter quality interpreted thermodynamically. *Soil Biology and Biochemistry*, 31, 1889-1891.

Bradford, M.A., Davies, C.A., Frey, S.D., Maddox, T.R., Melillo, J.M., Mohan, J.E., Reynolds, J.F., Treseder, K.K., Wallenstein, M.D. (2008) Thermal adaptation of soil microbial respiration to elevated temperature. *Ecology Letters*, 11(12):1316–1327.

Budge, K., Leifeld, J., Egli, M., Fuhrer, J. (2011) Soil microbial communities in (sub)alpine grasslands indicate a moderate shift towards new environmental conditions 11 years after soil translocation. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1148-1154.

Burgevin, H., Hénin, S. (1939) Dix années d'expériences sur l'action des engrais sur la composition et les propriétés d'un sol de limon. *Annales Agronomiques*, 6, 771-799.

Buyer, J.S., Teasdale, J.R., Roberts, D.P., Zasada, I.A., Maul, J.E. (2010) Factors affecting soil microbial community structure in tomato cropping systems. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 831-841.

Calvet, R., Chenu, C., Houot, S., (2011) Les matières organiques des sols. Rôles agronomiques et environnementaux. Editions France Agricole.

Chaussod, R. (1996) La qualité biologique des sols Evaluation et implications. Etude et Gestion des Sols 4, 261-276

Chemidlin Prévost-Bouré, N., Christen, R., Dequiedt, S., Mougel, C., Lelièvre, M., Jolivet, C., et al. (2011) Validation and Application of a PCR Primer Set to Quantify Fungal Communities in the Soil Environment by Real-Time Quantitative PCR. PLoS ONE 6(9): e24166. doi:10.1371/journal.pone.0024166

Chenu, C., Balabane, M. (2001) Une approche des matières organiques par leurs fonctions. Perspectives agricoles 272, 42-45.

Chenu, C., Stotzky, G. (2002) Interactions between microorganisms and soil particles: An overview. In: Huang PM, et al. (ed.) Interactions Between Soil Particles and Microorganisms. New York: Wiley.

Chenu, C., Virto, I., Plante, A.F., Elsass, F. (2009) Clay-size organo-mineral complexes in temperate soils: relative contributions of sorptive and physical protection. In: D.A. Laird, J. Cervini-Silva (Eds.), Carbon Stabilization by Clays. CMS workshop lectures. The Clay Minerals Society, Chantilly, VA, pp. 120-135.

Clark, I.M., Hirsch, P.R. (2008) Survival of bacterial DNA and culturable bacteria in archived soils from the Rothamsted Broadbalk experiment. Soil Biology and Biochemistry, 40, 1090–1102.

Cleveland, C.C., Nemergut, D.R., Schmidt, S.K., Townsend, A.R. (2007) Increases in soil respiration following labile carbon additions linked to rapid shifts in soil microbial community composition. Biogeochemistry, DOI 10.1007/s10533-006-9065-z

Cole, J.R., Wang, Q., Cardenas, E., Fish, J., Chai, B., Farris, R.J., Kulam-Syed-Mohideen, A.S., McGarrell, D.M., Marsh, T., Garrity, G.M., Tiedje, J.M., Ribosomal Database Project. (2009) Improved alignments and rRNA analysis. Nucleic Acids Research 37:D141–D145.

Coleman, K., Jenkinson, D.S. (1996) RothC-26.3 – A model for the turnover of carbon in soil. In: Evaluation of Soil Organic Matter Models Using Existing, Long-Term Datasets, Vol 38, (eds Powlson DS, Smith P, Smith JU), pp. 237–246. NATO ASI Series I, Springer, Berlin.

Conant, R.T., Drijber, R.A., Haddix, M.L., Parton, W.J., Paul, E.A., Plante, A.F., Six, J., Steinweg, J.M. (2008a) Sensitivity of organic matter decomposition to warming varies with its quality. *Global Change Biology*, 14:868–877.

Conant, R.T., Steinweg, J.M., Haddix, M.L., Paul, E.A., Plante, A.F., Six, J. (2008b) Experimental warming shows that decomposition temperature sensitivity increases with soil organic matter recalcitrance. *Ecology*, 89, 2384–2391.

Conant, R.T., Ryan, M.G., Agren, G.I. et al. (2011) Temperature and soil organic matter decomposition rates – synthesis of current knowledge and a way forward. *Global Change Biology*, 17, 3392–3404.

Cooper, J.M., Burton, D., Daniell, T.J., Griffiths, B.S., Zebarth, B.J. (2011) Carbon mineralization kinetics and soil biological characteristics as influenced by manure addition in soil incubated at a range of temperatures. *European Journal of Soil Biology*, 47, 392-399.

Cornelissen, G., van Noort, P.M., Parsons, J.R., Govers, H.J. (1997) Temperature dependence of slow adsorption and desorption kinetics of organic compounds in sediments. *Environmental Science and Technology*, 31, 454–460.

Cotrufo, M.F., Wallenstein, M.D., Boot, C.M., Deneff, K., 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? *Global Change Biology*, 19, 988–995.

Craine, J.M., Fierer, N., Mclauchlan, K.K. (2010) Widespread coupling between the rate and temperature sensitivity of organic matter decay. *Nature Geoscience*, 3, 854-857.

Davidson, E.A., Janssens, I.A. (2006) Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature*, 440, 165-173.

de Boer, W., Folman, L.B., Summerbell, R.C., Boddy, L. (2005) Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. *FEMS Microbiology Review* 29: 795–811.

De Nobili, M., Contin, M., Brookes, P.C. (2006) Microbial biomass dynamics in recently air-dried and rewetted soils compared to others stored air-dry for up to 103 years. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 2871-2881.

de Wilt, R., Bouvier, T., (2006) ‘Everything is everywhere, but, the environment selects’ ; what did Baas Becking and Beijerinck really say? *Environmental Microbiology*, 8(4), 755-758.

Decaëns, T., Jiménez, J.J., Gioia, C., Measey, G.J., Lavelle, P. (2006) The values of soil animals for conservation biology. *European Journal of Soil Biology*, 42, 23–38.

Derenne, S., Largeau, C. (2001) A review of some important families of refractory macromolecules: composition, origin and fate in soils and sediments. *Soil Science*, 166, 833-847.

Deslippe, J.R., Hartmann, M., Simard, S.W., Mohn, W.W. (2012) Long-term warming alters the composition of Arctic soil microbial communities. *FEMS Microbial Ecology*, 82, 303-315.

Dolfing, J., Vos, A., Bloem, J., Ehlert, P.A.I., Naumova, N.B., Kuikmani, P.J. (2004) Microbial Diversity in Archived Soils. *Science*, 306, 813.

Duchaufour, P. (2001) Introduction à la science du sol: Sol, végétation, environnement. 6ème édition. ed. Editions Dunod, Paris.

Duiker, S.W., Rhoton, F.E., Torrent, J., Smeck, N.E., Lal, R. (2003) Iron (Hydr)Oxide crystallinity effects on soil aggregation. *Soil Science Society of America Journal*, 67, 606-611.

Dümig, A., Häusler, W., Steffens, M., Kögel-Knabner, I. (2012) Clay fractions from a soil chronosequence after glacier retreat reveal initial evolution of organo-mineral associations. *Geochimica and Cosmochimica Acta*, 85, 1-18.

Dunbar, J., Takala, S., Barns, S.M., Davis, J.A., Kuske, C.R. (1999) Levels of bacterial community diversity in four arid soils compared by cultivation and 16S rRNA gene cloning. *Applied Environmental Microbiology*, 65:1662-1669.

Dungait, J.A.J., Hopkins, D.W., Gregory, A.S., Whitmore, A.P. (2012) Soil organic matter turnover is governed by accessibility not recalcitrance. *Global Change Biology*, 18(6), 1781-1796.

Eilers, K.G., Lauber, C.L., Knight, R., Fierer, N. (2010) Shifts in bacterial community structure associated with inputs of low molecular weight carbon compounds to soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(6), 896-903.

Ekschmitt, K., Kandeler, E., Poll, C., Brune, A., Buscot, F., Friedrich, M., Gleixner, G., Hartmann, A., Kastner, M., Marhan, S., Miltner, A., Scheu, S., Wolters, V. (2008) Soil-carbon preservation through habitat constraints and biological limitations on decomposer activity. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 171(1), 27-35.

Elfstrand, S., Hedlund, K., Matensson, A. (2007) Soil enzyme activities, microbial community composition and function after 47 years of continuous green manuring. *Applied Soil Ecology*, 35, 610-621.

Enell, A., Reichenberg, F., Ewald, G., Warfvinge, P. (2005) Desorption kinetics studies on PAH-contaminated soil under varying temperatures. *Chemosphere*, 61, 1529-1538.

Eusterhues, K., Rumpel, C., Kogel-Knabner, I. (2005) Stabilization of soil organic matter isolated via oxidative degradation. *Organic Geochemistry* 36, 1567–1575.

Eusterhues, K., Rumpel, C., Kogel-Knabner, I. (2007) Composition and radiocarbon age of HF-resistant soil organic matter in a Podzol and a Cambisol. *Organic Geochemistry*, 38(8), 1356-1372.

Fang, C., Smith, P., Moncrieff, J.B., Smith, J.U. (2005) Similar response of labile and resistant soil organic matter pools to changes in temperature. *Nature*, 433, 57–59.

Falloon, P., Smith, P., Coleman, K., Marshall, S. (1998) Estimating the size of the inert organic matter pool from total soil organic carbon content for use in the Rothamsted carbon model. *Soil Biology and Biochemistry*, Vol. 30, 8/9, 1207-1211.

Falloon, P., Smith, P. (2000) Modelling refractory soil organic matter. *Biology and Fertility of Soils* 30, 388-398.

Feng, X., Simpson, M.J.J. (2009) Temperature and substrate controls on microbial phospholipid fatty acid composition during incubation of grassland soils contrasting in organic matter quality. *Soil Biology and Biochemistry*, 41, 804-812.

Fierer, N., Schimel, J.P., Holden, P.A. (2003) Variations in microbial community composition through two soil depth profiles. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 167.

Fierer, N., Craine, J.M., Mclauchlan, K., Schimel, J.P. (2005) Litter quality and the temperature sensitivity of decomposition. *Ecology*, 86, 320–326.

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

Fierer, N., Bradford, M.A., Jackson, R.B. (2007) Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*, 88(6), 1354–1364.

Frankland, J.C. (1998) Fungal succession - unravelling the unpredictable. *Mycological Research*, 102, 1–15.

Freeman, C., Ostle, N.J., Fenner, N., Kang, H. (2004) A regulatory role for phenol oxidase during decomposition in peatlands. *Soil Biology and Biochemistry*, 36, 1663-1667.

Frey, S.D., Drijber, R., Smith, H., Melillo, J. (2008) Microbial biomass, functional capacity, and community structure after 12 years of soil warming. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 2904–2907.

Friedlingstein, P., Cox, P., Betts, R. et al. (2006) Climate–Carbon Cycle Feedback Analysis: Results from the C4MIP Model Intercomparison. *Journal of Climate*, 19, 3337-3353.

Gleixner, G., Czimczik, C.J., Kramer, C., Lühker, B., Schmidt, M.W.I. (2001) Plant compounds and their turnover and stability as soil organic matter. In: Schulze, E.-D.,

Heimann, M., Harrison, S., Holland, E., Lloyd, J.L., Prentice, C., Schimel, D. (Eds.): Global Biogeochemical Cycles in the Climate System. Academic Press, San Diego, USA, 201-215.

Glaser, B., Amelung, W. (2003) Pyrogenic carbon in native grassland soils along a climosequence in North America. *Global Biogeochemical Cycles*, 17, 1064.

Griffin, D.M. (1985) A comparison of the roles of bacteria and fungi In: *Bacteria in Nature* (Leadbetter, E.R. and Poindexter, J.S., Eds.), *Bacterial Activities in Perspective*, vol. 1, pp. 221–255. Academic Press, London.

Giardina, C.P., Ryan, M.G. (2000) Evidence that decomposition rates of organic carbon in mineral soil do not vary with temperature. *Nature*, 404, 858-861.

Girard, M.C., Walter, C., Remy, J.C., Berthelin, J., Morel, J.L., (2005) *Sols et Environnement*. Dunod (Ed.) 816p.

Griffiths, B.S., Bonkowski, M., Dobson, G., Caul, S., (1999) Changes in soil microbial community structure in the presence of microbial-feeding nematodes and protozoa. *Pedobiologia*, 43, 297-304.

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

Griffiths, B.S., Philippot, L. (2012) Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community. *FEMS Microbiology Review*, 37, 112–129.

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

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

Gul, S., Whalen, J.K., Ellis, B.E., Grayston, S.J. (2012) Plant residue chemistry impacts soil processes and community structure: A study with *Arabidopsis thaliana* cell wall mutants. *Applied Soil Ecology*, 60, 84-91.

Haddix, M.L., Plante, A.F., Conant, R.T. et al. (2011) The role of soil characteristics on temperature sensitivity of soil organic matter. *Soil Science Society of America Journal*, 75, 56-68.

Hamdi, S., Moyano, F., Sall, S., Bernoux, M., Chevallier, T. (2013) Synthesis analysis of the temperature sensitivity of soil respiration from laboratory studies in relation to incubation methods and soil conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, 58, 115-126.

Hartley, I.P., Ineson, P. (2008) Substrate quality and the temperature sensitivity of soil organic matter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 1567–1574.

Hatzinger, P.B., Alexander, M., (1995) Effect of aging of chemicals in soil on their biodegradability and extractability. *Environmental Science and Technology*, 29(2), 537-545.

Hayden, E.L., Mele, P.M., Bougoure, D.S., Allan, C.Y., Norng, S., Piceno, Y.M., Brodie, E. L., DeSantis, T.Z., Andersen, G.L., Williams, A.L., Hovenden, M.J. (2012) Changes in the microbial community structure of bacteria: archaea and fungi in response to elevated CO₂ and warming in an Australian native grassland soil. *Environmental Microbiology*, 12 (14), 3081–3096.

Heimann, M., Reichstein, M. (2008) Terrestrial ecosystem carbon dynamics and climate feedbacks. *Nature*, 451, 289–292.

Hénin S., Dupuis M. (1945) Essai de bilan de la matière organique des sols. *Annales agronomiques*, 15 (1), 161-172.

Hirsch, P.R., Gilliam, L.M., Sohi, S.P., Williams, J.K., Clark, I.M., Murray, P.J. (2009) Starving the soil of plant inputs for 50 years reduces abundance but not diversity of soil bacterial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 41, 2021–2024

IPCC, (2014): *Climate Change 2014: Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Edenhofer, O., R. Pichs-Madruga, Y. Sokona, E. Farahani, S. Kadner, K.

Seyboth, A. Adler, I. Baum, S. Brunner, P. Eickemeier, B. Kriemann, J. Savolainen, S. Schlömer, C. von Stechow, T. Zwickel and J.C. Minx (eds.)). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

Jenkins, S.N., Rushton, S.P., Lanyon, C.V., Whiteley, A.S., Waite, I.S., Brookes, P.C., Kemmitt, S., Evershed, R.P., O'Donnell, A.G. (2010) Taxon-specific responses of soil bacteria to the addition of low level C inputs. *Soil Biology and Biochemistry*, 42:1624–31.

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

Jobbagy, E.G., Jackson, R.B. (2000) The vertical distribution of soil organic carbon and its relation to climate and vegetation. *Ecological Applications*, 10, 423–436.

John, B., Yamashita, T., Ludwig, B., Flessa, H. (2005) Storage of organic carbon in aggregate and density fractions of silty soils under different types of land use. *Geoderma*, 128(1/2).

Johnson, M.D., Weber, W.J. (2001) Rapid prediction of long-term rates of contaminant desorption from soils and sediments. *Environmental Science and Technology*, 35, 427–433.

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

Jones, D.L., Edwards, A.C. (1998) Influence of sorption on the biological utilization of two simple substrates. *Soil Biology and Biochemistry*, 30, 1895.

Kalbitz, K., Schwesig, D., Rethemeyer, J., Matzner, E. (2005) Stabilization of dissolved organic matter by sorption to the mineral soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 37, 1319–1331.

Karhu, K., Fritze, H., Tuomi, M., Vanhala, P., Spetz, P., Kitunen, V., Liski, J. (2010) Temperature sensitivity of organic matter decomposition in two boreal soil profiles. *Soil Biology and Biochemistry*, 42, 72-82.

Kelleher, B.P., Simpson, M.J., Simpson, A.J. (2006) Assessing the fate and transformation of plant residues in the terrestrial environment using HR-MAS NMR spectroscopy. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 70, 4080–4094.

Kerster, K., De vos, P., Gillis, M., et al. (2006) Introduction to the Proteobacteria. In: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.H., Stackebrandt, E. (Eds.), *The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria*. Springer, New York, pp. 3– 37.

Kiem, R., Knicker, H., Korschens, M., Kogel-Knabner, I. (2000) Refractory organic carbon in C-depleted arable soils, as studied by ¹³C NMR spectroscopy and carbohydrate analysis. *Organic Geochemistry*, 31(7/8), 655-668.

Kiem, R., Knicker, H., Kogel-Knabner, I. (2002a) Refractory organic carbon in particle-size fractions of arable soils: I. Distribution of refractory carbon between the size fractions. *Organic Geochemistry*, 33, 1683-1697.

Kiem, R., Kogel-Knabner, I. (2002b) Refractory organic carbon in particle-size fractions of arable soils. II: Organic carbon in relation to mineral surface area and iron oxides in fractions <6 micro m. *Organic Geochemistry*, 33(12), 1699-1713.

Kiem, R., Kogel-Knabner, I. (2003) Contribution of lignin and polysaccharides to the refractory carbon pool in C-depleted arable soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(1), 101-118.

Kirschbaum, M.K. (1995) The temperature dependence of soil sorganic matter, and the effect of global warming on soil organic storage. *Soil Biology and Biochemistry*, 27(6), 753-760.

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

Kleber, M. (2010) What is recalcitrant soil organic matter? *Environmental Chemistry*, 7, 320–332.

Kleber, M., Nico, P.S., Plante, A.F., Filley, T., M., K., Swanston, C., Sollins, P. (2011) Old and stable soil organic matter is not necessarily chemically recalcitrant: implications for modeling concepts and temperature sensitivity. *Global Change Biology*, 17, 1097–1107.

Knorr, W., Prentice, I.C., House, J.I., Holland, E.A. (2005) Long-term sensitivity of soil carbon turnover to warming. *Nature*, 433, 298–301.

Kögel-Knaber, I., Amelung, W. (2014) Dynamics, Chemistry, and Preservation of Organic Matter in Soils. pp. 157-215 In H.D. Holland and K.K. Turekian (eds), *Treatise on Geochemistry*, Second Edition, vol. 12, Oxford: Elsevier; ISBN 9780080959757.

Kögel-Knabner I., Guggenberger G., Kleber M., Kandeler E., Kalbitz K., Scheu S., Eusterhues K., Leinweber P. (2008) Organo-mineral associations in temperate soils: Integrating biology, mineralogy, and organic matter chemistry. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 171, 61–82.

Kramer, C., Gleixner, G. (2006) Variable use of plant- and soil-derived carbon by microorganisms in agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 3267-3278.

Kramer, C., Gleixner, G. (2008) Soil organic matter in soil depth profiles: Distinct carbon preferences microbial groups during carbon transformation. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 425-433.

Kuan, H.L., Hallett, P.D., Griffiths, B.S., Gregory, A.S., Watts, C.W., Whitmore, A.P. (2007) The biological and physical stability and resilience of a selection of Scottish soils to stresses. *European Journal of Soil Science*, 58, 811–821.

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

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

Lavelle, P., Spain, A.V. (2001) *Soil ecology*. Amsterdam: Kluwer Scientific, 2001. 678p.

Lefevre, R., Barré, P., Moyano, F.E., Christensen, B.T., Bardoux, G., Eglin, T., Girardin, C., Houot, S., Kätterer, T., van Oort, F., Chenu, C. (2014) Higher temperature sensitivity for stable than for labile soil organic carbon – Evidence from incubations of long-term bare fallow soils. *Global Change Biology*, 20, 633-640.

Leifeld, J., Fuhrer, J. (2005) The temperature response of CO₂ production from bulk soils and soil fractions is related to soil organic matter quality. *Biogeochemistry*, 75, 433–453.

Liao, J.D., Boutton, T.W., Jastrow, J.D. (2006) Organic matter turnover in soil physical fractions following woody plant invasion of grassland: Evidence from natural ¹³C and ¹⁵N. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 3197–3210.

Lienhard, P., Terrat, S., Mathieu, O., Levêque, J., Chemidlin-Prévost-Bouré, N., Nowak V., Régnier, T., Faivre, C., Sayphoummie, S., Panyasiri, K., Tivet, F., Ranjard, L., Maron, P-A. (2013) Soil microbial diversity and C turnover modified by tillage and cropping in Laos tropical grassland. *Environmental Chemistry Letters*, 11, 391–398.

Liski, J., Ilvesniemi, H., Makela, A., Westman, C.J. (1999) CO₂ emissions from soil in response to climatic warming are overestimated—the decomposition of old soil organic matter is tolerant of temperature. *Ambio*, 28, 171–174.

Lockwood, J.L. (1967) The fungal environment of soil bacteria In: *The Ecology of Soil Bacteria* (Gray, T.R.G. and Parkinson, D., Eds.), pp. 44–65. Liverpool University Press.

Luo, Y., Wan, S., Hui, D., Wallace, L.L. (2001) Acclimatization of soil respiration to warming in a tall grass prairie. *Nature*, 413(6856), 622–625.

Lutfalla, S., Chenu, C., Barré, P. (2014) Are chemical oxidation methods relevant to isolate a soil pool of centennial carbon? *Biogeochemistry*, 118, 135–139.

Lynd, L.R., Weimer, P.J., van Zyl, W.H., Pretorius, I.S. (2002) Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Review*, 66, 506–577.

MacKenziem, M.D., Quideau, S.A. (2010) Microbial community structure and nutrient availability in oil sands reclaimed boreal soils. *Applied Soil Ecology*, 44, 32–41.

Marilley, L., Aragno, M. (1999) Phylogenetic diversity of bacterial communities differing in degree of proximity of *Lolium perenne* and *Trifolium repens* roots. *Applied Soil Ecology*, 13, 127–136.

McCaig, A.E., Glover, L.A., Prosser, J.I. (1999) Molecular analysis of bacterial community structure and diversity in unimproved and improved upland grass pastures. *Applied Environmental Microbiology*, 65, 1721-1730.

Marschner, B., Brodowski, S., Dreves, A., Gleixner, G., Gude, A., Grootes, P.M., Hamer, U., Heim, A., Jandl, G., Ji, R., Kaiser, K., Kalbitz, K., Kramer, C., Leinweber, P., Rethemeyer, J., Schaffer, A., Schmidt, M.W.I., Schwark, L., Wiesenberg, G.L.B. (2008) How relevant is recalcitrance for the stabilization of organic matter in soils? *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 171(1), 91-110.

Masiello, C.A. (2004) New directions in black carbon organic geochemistry. *Marine Chemistry*, 92, 201–213.

Melillo, J.M., Steudler, P.A., Aber, J.D., Newkirk, K., Lux, H., Bowles, F.P., Catricala, C., Magill, A., Ahrens, T., Morrisseau, S. (2002) Soil warming and carbon-cycle feedbacks to the climate system. *Science*, 298(5601), 2173–2176.

Mook, W.G., van der Plicht, J. (1999) Reporting C-14 activities and concentrations. *Radiocarbon*, 41(3), 227-239.

Moyano, F.E., Vasilyeva, N., Bouckaert, L., et al. (2012) The moisture response of soil heterotrophic respiration: interaction with soil properties. *Biogeosciences*, 9, 1173-1182.

Naisse, C., Alexis, M., Plante, A., Wiedner, K., Glaser, B., Pozzi, A., Carcaillet, C., Criscuoli, I., Rumpel, C. (2013) Can biochar and hydrochar stability be assessed with chemical methods? *Organic Geochemistry*, 60, 40-44.

Nunan, N., Young, I.M., Crawford, J.W., Rithz, K. (2007) Bacterial interactions at the microscale - Linking habitat to function in soil. In: *The spatial distribution of microbes in the environment* (eds. R.B. Franklin & A.L. Mills), pp. 61-86. Kluwer Academic Publishers, New York.

Osono, T. (2007) Ecology of ligninolytic fungi associated with leaf litter decomposition. *Ecological Research*, 22, 955–974.

Padmanabhan, P., Padmanabhan, S., DeRito, C., Gray, A., Gannon, D., Snape, J.R., Tsai, C.S., Park, W., Jeon, C., Madsen, E.L. (2003) Respiration of ¹³C-Labeled Substrates Added to Soil in the Field and Subsequent 16S rRNA Gene Analysis of ¹³C-Labeled Soil DNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(3), 1614–1622.

Parton, W.J., Schimel, D.S., Cole, C.V., Ojima, D.S. (1987) Analysis of factors controlling soil organic matter levels in Great Plains Grasslands. *Soil Science Society of America Journal*, 51, 1173-1179.

Pascual, N., Cécillon, L., Mathieu, O., Hénault, C., Sarr, A., Lévêque, J., Farcy, P., Ranjard, L., Maron, P-A. (2010) In Situ Dynamics of Microbial Communities during Decomposition of Wheat, Rape, and Alfalfa Residues. *Microbial Ecology*, 60, 816–828.

Pascual, N., Ranjard, L., Kaisermann, A., Bachar, D., Christen, R., Terrat, S., Mathieu, O., Lévêque, J., Mougel, C., Henault, C., Lemanceau, P., Péan, M., Boiry, S., Fontaine, S., Maron, P-A. (2013) Stimulation of different functional groups of bacteria by various plant residues as a driver of soil priming effect. *Ecosystems*, DOI: 10.1007/s10021-013-9650-7

Paterson, E., Sim, A., Osborne, S.M., Murray, P.J. (2011) Long-term exclusion of plant-inputs to soil reduces the functional capacity of microbial communities to mineralize recalcitrant root-derived carbon sources. *Soil biology and Biochemistry*, 43, 1879-1880.

Paul, E.A., Follett, R.F., Leavitt, S.W., Halvorson, A., Peterson, G.A., Lyon, D.J. (1997) Radiocarbon dating for determination of soil organic matter pool sizes and dynamics. *Soil Science Society of America Journal*, 61, 1058-1067.

Paul, E.A., Morris, S.J., Conant, R.T., Plante, A.F. (2006) Does the acid hydrolysis-incubation method measure meaningful soil organic carbon pools? *Soil Science Society of America Journal*, 70(3), 1023-1035.

Pennanen, T., Caul, S., Daniell, T.J., Griffiths, B.S., Ritzl, K., Wheatley, R.E. (2004) Community-level responses of metabolically-active soil microorganisms to the quantity and quality of substrate inputs. *Soil Biology and Biochemistry*, 36, 841–848.

Piccolo, A. (2001) The supramolecular structure of humic substances. *Soil Science*, 166, 810–832.

Plante, A.F., Chenu, C., Balabane, M., Mariotti, A., Righi, D. (2004) Peroxide oxidation of clay-associated organic matter in a cultivation chronosequence. *European Journal of Soil Science*, 55(3), 471-478.

Plante, A.F., Pernes, M., Chenu, C. (2005) Gross changes in clay-associated organic matter in a C depletion sequence as measured by thermal techniques. *Geoderma*, 129, 186-199.

Plante, A.F., Conant, R.T., Carlson, J., Greenwood, R., Shulman, J.M., Haddix, M.L., Paul, E.A. (2010) Decomposition temperature sensitivity of isolated soil organic matter fractions. *Soil Biology and Biochemistry*, 42, 1991-1996.

Potthoff, M., Steenwerth, K.L., Jackson, L.E., Drenovsky, R.E., Scow, K.M., Joergensen, R.G; (2006) Soil microbial community composition as affected by restoration practices in California grassland. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 1851–1860.

Preston, C.M., Schmidt, M.W.I. (2006) Black (pyrogenic) carbon: a synthesis of current knowledge and uncertainties with special consideration of boreal regions. *Biogeosciences*, 3, 397–420.

Quenea, K., Derenne, S., Largeau, C., Rumpel, C., Marloti, A. (2004) Variation in lipid relative abundance and composition among different particle size fractions of a forest soil. *Organic Geochemistry*, 35(11-12), 1355-1370.

Rasse, D.P., Dignac, M.F., Bahri, H., Rumpel, C., Mariotti, A., Chenu, C. (2006) Lignin turnover in an agricultural field: from plant residues to soil-protected fractions. *European Journal of Soil Science*, 57, 530-538.

Reichstein, M., Subke, J.-A., Angeli, A.C., Tenhunen, J.D. (2005) Does the temperature sensitivity of decomposition of soil organic matter depend upon water content, soil horizon, or incubation time? *Global Change Biology*, 11, 1754–1767.

Riah-Anglet, W., Trinsoutrot-Gattin, I., Martin-Laurent, F., Laroche-Ajzenberg, E., Norini, M-P., Latour, X., Laval, K. (2015) Soil microbial community structure and function relationships: A heat stress experiment. *Applied Soil Ecology*, 86, 121–130.

Rinnan, R., Michelsen, A., Bååth, E., Jonasson, S. (2007) Fifteen years of climate change manipulations alter soil microbial communities in a subarctic heath ecosystem. *Global Change Biology*, 13, 28–39.

Rousk, J., Brookes, P.C., Baath, E. (2010) The microbial PLFA composition as affected by pH in an arable soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 42, 516-520.

Rühlmann, J. (1999) A new approach to estimating the pool of stable organic matter in soil using data from long-term field experiments. *Plant and Soil*, 213(1/2), 149-160.

Sapp, M., Harrison, M., Hany, U., Charlton, A., Thwaites, R. (2015) Comparing the effect of digestate and chemical fertiliser on soil bacteria. *Applied Soil Ecology*, 86, 1–9.

Schindlbacher, A., Rodler, A., Kuffner, M., Kitzler, B., Sessitsch, A., Zechmeister-Boltenstern, S. (2011) Experimental warming effects on the microbial community of a temperate forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 43, 1417-1425.

Schmidt, M.W.I., Skjemstad, J.O., Jäger, C. (2002) Carbon isotope geochemistry and nanomorphology of soil black carbon: Black chernozemic soils in central Europe originate from ancient biomass burning. *Global Biogeochemical Cycles*, 16, 1123.

Schmidt, M.W.I., Torn, M.S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I.A., Kleber, M., Kogel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning, D.A.C., Nannipieri, P., Rasse, D.P., Weiner, S., Trumbore, S.E. (2011) Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*, 478(7367), 49-56.

Schrumpf, M., Kaiser, K., Guggenberger, G., Persson, T., Koegel-Knabner, I., Schulze, E.D. (2013) Storage and stability of organic carbon in soils as related to depth, occlusion within aggregates, and attachment to minerals. *Biogeosciences*, 10(3), 1675-1691.

Shimmel, S.M., Darley, W.M. (1985) Productivity and density of soil algae in an agricultural system. *Ecology*, 66(5), 1439-1447.

Sierra, C.A. (2012) Temperature sensitivity of soil organic matter decomposition in the Arrhenius equation: some theoretical considerations. *Biogeochemistry*, 108, 1–15.

Singh, N., Abiven, S., Torn, M.S., Schmidt, M.W.I. (2012) Fire-derived organic carbon in soil turns over on a centennial scale. *Biogeosciences*, 9, 2847–2857.

Sinsabaugh, R.L. (2010) Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(3), 391-404.

Sitch, S., Huntingford, C., Gedney, N. et al. (2008) Evaluation of the terrestrial carbon cycle, future plant geography and climate-carbon cycle feedbacks using five Dynamic Global Vegetation Models (DGVMs). *Global Change Biology*, 14, 2015–2039.

Steinhof, A., Adamiec, G., Gleixner, G., van Klinken, G.J., Wagner, T. (2004) The new ¹⁴C analysis laboratory in Jena, Germany. *Radiocarbon*, 46, 51–58.

Stevenson, F.J. (1982) *Humus Chemistry, Genesis, Composition, Reactions*. John Wiley, New York.

Tatangelo, V., Franzetti, A., Gandolfi, I., Bestetti, G., Ambrosini, R. (2014) Effect of preservation method on the assessment of bacterial community structure in soil and water samples. *FEMS Microbiology Letters*, 356, 32–38.

Terrat, S., Plassart, P., Bourgeois, E., Ferreira, S., Dequiedt, S., Adele-Dit-De-Renseville, N., Lemanceau, P., Bispo, A., Chabbi, A., Maron, P-A., Ranjard L. (2014) Meta-barcoded evaluation of the ISO standard 11063 DNA extraction procedure to characterize soil bacterial and fungal community diversity and composition. *Microbial Biotechnology*, 10/2014; 8(1). DOI:10.1111/1751-7915.12162.

Thévenot, M., Dignac, M.-F., Rumpel, C. (2010) Fate of lignins in soils : a review. *Soil Biology and Biochemistry*, 42, 1200-1211.

Townsend, A.R., Vitousek, P.M., Trumbore, S.E. (1995) Soil organic matter dynamics along gradients in temperature and land use on the Island of Hawaii. *Ecology*, 76(3): 721–733.

Trumbore, S.E., Chadwick, O.A., Amundson, R. (1996) Rapid exchange between soil carbon and atmospheric carbon dioxide driven by temperature change. *Science*, 272(5260), 393–396.

Trumbore, S.E. (1997) Potential responses of soil organic carbon to global environmental change. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, 94(16), 8284-8291.

Tuomela, M., Vikman, M., Hatakka, A. and Itavaara, M. (2000) Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Bioresearch and Technology*, 72, 169–183.

Tveit, A., Schwacke, R., Svenning, M.M., Urich, T. (2013) Organic carbon transformations in high-Arctic peat soils: key functions and microorganisms. *The ISME Journal*, 7, 299–311.

Uroz, S., Tech, J.J., Sawaya, N.A., Frey-Klett, P., Leveau, J.H.J. (2014) Structure and function of bacterial communities in ageing soils: Insights from the Mendocino ecological staircase. *Soil Biology and Biochemistry*, 69, 265-274.

Vanhala, P., Karhu, K., Tuomi, M., Sonninen, E., Jungner, H., Fritze, H., Liski, J. (2007) Old soil carbon is more temperature sensitive than the young in an agricultural field. *Soil Biology and Biochemistry*, 39, 2967-2970.

Vasilyeva, N., Plante, A.F., Lefèvre, R., Chenu, C. (in prep for *European Journal of Soil Science*) Dynamics of char- and non-char organic C in physical fractions in a long-term bare fallow soil.

Virto, I., Moni, C., Swanston, C., Chenu, C. (2010) Turnover of intra- and extra-aggregate organic matter at the silt-size scale. *Geoderma*, 156(1/2), 1-10.

von Lutzow, M., Kogel-Knabner, I., Ekschmitt, K., Matzner, E., Guggenberger, G., Marschner, B., Flessa, H. (2006) Stabilization of organic matter in temperate soils: mechanisms and their relevance under different soil conditions - a review. *European Journal of Soil Science*, 57, 426-445.

von Lutzow, M., Kogel-Knabner, I., Ludwig, B., Matzner, E., Flessa, H., Ekschmitt, K., Guggenberger, G., Marschner, B., Kalbitz, K. (2008) Stabilization mechanisms of organic

matter in four temperate soils: Development and application of a conceptual model. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 171(1), 111-124.

von Oepen, B., Kördel, W., Klein, W. (1991) Sorption of nonpolar and polar compounds to soils: Processes, measurements and experience with the applicability of the modified OECD-Guideline 106. *Chemosphere*, 22(3-4), 285-304.

Voriskova, J., Baldrian, P. (2013) Fungal community on decomposing leaf litter undergoes rapid successional changes. *The ISME Journal*, 7, 477–486.

Wagai, R., Kishimoto-Mo, A.W., Yonemura, S., Shirato, Y., Hiradate, S., Yagasaki, Y. (2013) Linking temperature sensitivity of soil organic matter decomposition to its molecular structure, accessibility and microbial physiology. *Global Change Biology*, 19, 4, 1114-1125.

Wakelin, S., Mander, C., Gerard, E., et al. (2012) Response of soil microbial communities to contrasted histories of phosphorus fertilization in pastures. *Applied Soil Ecology*, 61, 40–48.

Wakelin, S.A., Barratt, B.I.P., Gerard, E., Gregg, A.L., Eoin, L. Brodie, E.L., Andersen, G.L., DeSantis, T.Z., Zhou, J., He, Z., Kowalchuk, G.A., O’Callaghan, M. (2013) Shifts in the phylogenetic structure and functional capacity of soil microbial communities follow alteration of native tussock grassland ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, 57, 675-682.

Waldrop, M.P., Firestone, M.K. (2004) Altered utilization patterns of young and old soil C by microorganisms caused by temperature shifts and N additions. *Biogeochemistry* 67: 235–248.

Wander, M. (2004) Soil organic matter fractions and their relevance to soil function. In: F. Magdoff, R. Weil (Eds.), *Advances in Agroecology*. CRC Press, pp. 67-102.

Wang, G-H., Jin, J., Liu, J-J., Chen, X-L., Liu, J-D., Liu, X-B. (2009) Bacterial community structure in a mollisol under long-term natural restoration, cropping and bare fallow history estimated by PCR-DGGE. *Pedosphere*, 19(2), 156-165.

Wells, J.M., Boddy, L. (1995) Phosphorus translocation by saprotrophic basidiomycete mycelial cord systems on the floor of a mixed deciduous woodland. *Mycological Research*, 99, 977–980.

Wells, J.M., Boddy, L., Evans, R. (1995) Carbon translocation in mycelial cord systems of *Phanerochaete velutina* (De, Pers) Parmasto. *New Phytologist*, 129, 467–476.

Yachi, S., Loreau, M. (1999) Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: The insurance hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Science USA* Vol. 96, pp. 1463–1468, February 1999, *Ecology*.

Wu, Y., Ma, B., Zhou, L., Wang, H., Xu, J., Kemmitt, S., Brookes, P.C. (2009) Changes in the soil microbial community structure with latitude in eastern China based on phospholipid fatty acid analysis. *Applied Soil Ecology*, 43, 234-240.

Wetterstedt, J.M., Persson, T., Agren, G.I. (2010) Temperature sensitivity and substrate quality in soil organic matter decomposition: results of an incubation study with three substrates. *Global Change Biology*, 16, 1806–1819.

Williams, M.A., Rice, C.W. (2007) Seven years of enhanced water availability influences the physiological, structural, and functional attributes of a soil microbial community. *Applied Soil Ecology* 35, 535-545.

Zhang, W., Parker, K.M., Luo, Y., Wan, S., Wallace, L.L., Hu, S. (2005) Soil microbial response to experimental warming and clipping in a tallgrass prairie. *Global Change Biology*, 11, 266-277.

Zhang, Q-C., Shamsia, I.H., Xua, D-T., Wang, G-H., Lina, X-Y., Jilani, G., Hussain, N., Chaudhry, A.N. (2012) Chemical fertilizer and organic manure inputs in soil exhibit a vice versa pattern of microbial community structure. *Applied Soil Ecology*, 57, 1– 8.

Zogg, G., Zak, D., Ringelberg, D., Macdonald, N., Pregitzer, K., White, D. (1997). Compositional and functional shifts in microbial communities due to soil warming. *Soil Science Society of America Journal* 61, 475-481.

Annexes

Annexe – Chapitre 1

| Site | Plot | BF | MAT | C | N | C:N | Sand | Silt | Clay | Ea | k ₂₀ | R ₂₀ |
|------------|------|----|------|--------|------|------|------|------|------|------|-----------------|-----------------|
| Askov | A | 0 | 7.8 | 16.82 | 1.66 | 10.1 | 82 | 11 | 7 | 54.8 | 0.093 | 11.73 |
| Askov | B | 0 | 7.8 | 16.70 | 1.64 | 10.2 | 82 | 11 | 7 | 55.9 | 0.072 | 11.81 |
| Askov | C | 0 | 7.8 | 17.74 | 1.69 | 10.5 | 82 | 11 | 7 | 54.9 | 0.103 | 13.26 |
| Askov | A | 25 | 7.8 | 11.57 | 1.14 | 10.1 | 82 | 11 | 7 | 66.0 | 0.072 | 7.92 |
| Askov | B | 25 | 7.8 | 10.69 | 1.02 | 10.5 | 82 | 11 | 7 | 58.3 | 0.092 | 10.81 |
| Askov | C | 25 | 7.8 | 12.49 | 1.16 | 10.8 | 82 | 11 | 7 | 62.3 | 0.068 | 7.54 |
| Grignon | A | 0 | 10.7 | 12.70 | 1.55 | 8.2 | 16 | 54 | 30 | 61.0 | 0.118 | 15.54 |
| Grignon | B | 0 | 10.7 | 13.43 | 1.57 | 8.6 | 16 | 54 | 30 | 53.4 | 0.125 | 16.61 |
| Grignon | C | 0 | 10.7 | 14.47 | 1.69 | 8.6 | 16 | 54 | 30 | 49.1 | 0.140 | 17.74 |
| Grignon | A | 48 | 10.7 | 8.34 | 1.02 | 8.2 | 16 | 54 | 30 | 78.6 | 0.033 | 2.46 |
| Grignon | B | 48 | 10.7 | 8.60 | 1.01 | 8.5 | 16 | 54 | 30 | 77.7 | 0.031 | 2.25 |
| Grignon | C | 48 | 10.7 | 8.84 | 1.04 | 8.5 | 16 | 54 | 30 | 73.9 | 0.031 | 2.36 |
| Ultuna | ABC | 0 | 5.5 | 15.66 | 1.68 | 9.3 | 23 | 41 | 36 | 52.5 | 0.235 | 31.41 |
| Ultuna | A | 53 | 5.5 | 11.158 | 1.02 | 10.9 | 23 | 41 | 36 | 68.9 | 0.067 | 6.88 |
| Ultuna | B | 53 | 5.5 | 10.697 | 1.03 | 10.4 | 23 | 41 | 36 | 63.9 | 0.072 | 7.24 |
| Ultuna | C | 53 | 5.5 | 9.79 | 1.01 | 9.7 | 23 | 41 | 36 | 63.1 | 0.079 | 8.49 |
| Versailles | A | 0 | 10.7 | 21.25 | 2.01 | 10.6 | 26 | 57 | 17 | 54.9 | 0.213 | 29.19 |
| Versailles | B | 0 | 10.7 | 19.26 | 1.97 | 9.8 | 26 | 57 | 17 | 67.0 | 0.164 | 23.03 |
| Versailles | C | 0 | 10.7 | 19.59 | 1.94 | 10.1 | 26 | 57 | 17 | 58.4 | 0.213 | 27.44 |
| Versailles | A | 79 | 10.7 | 6.07 | 0.60 | 10.0 | 26 | 57 | 17 | 57.1 | 0.079 | 7.57 |
| Versailles | B | 79 | 10.7 | 6.73 | 0.70 | 9.6 | 26 | 57 | 17 | 73.8 | 0.050 | 4.64 |
| Versailles | C | 79 | 10.7 | 6.62 | 0.63 | 10.5 | 26 | 57 | 17 | 62.2 | 0.059 | 6.38 |

Table 12: Selected properties of the incubated soils including plot number (Plot), bare fallow duration (BF; years), mean annual temperature (MAT; °C), C and N contents (mg g⁻¹ soil), C/N ratio, soil texture, activation energy calculated on the initial 50 mg C-CO₂ g soil⁻¹ (Ea; kJ mol⁻¹), decomposition rate of the first 50 mg C-CO₂ g soil⁻¹ (k₂₀; year⁻¹) and specific respiration rate at 20°C (R₂₀; µg C-CO₂ g⁻¹ OC h⁻¹).

Annexe – Chapitre 2

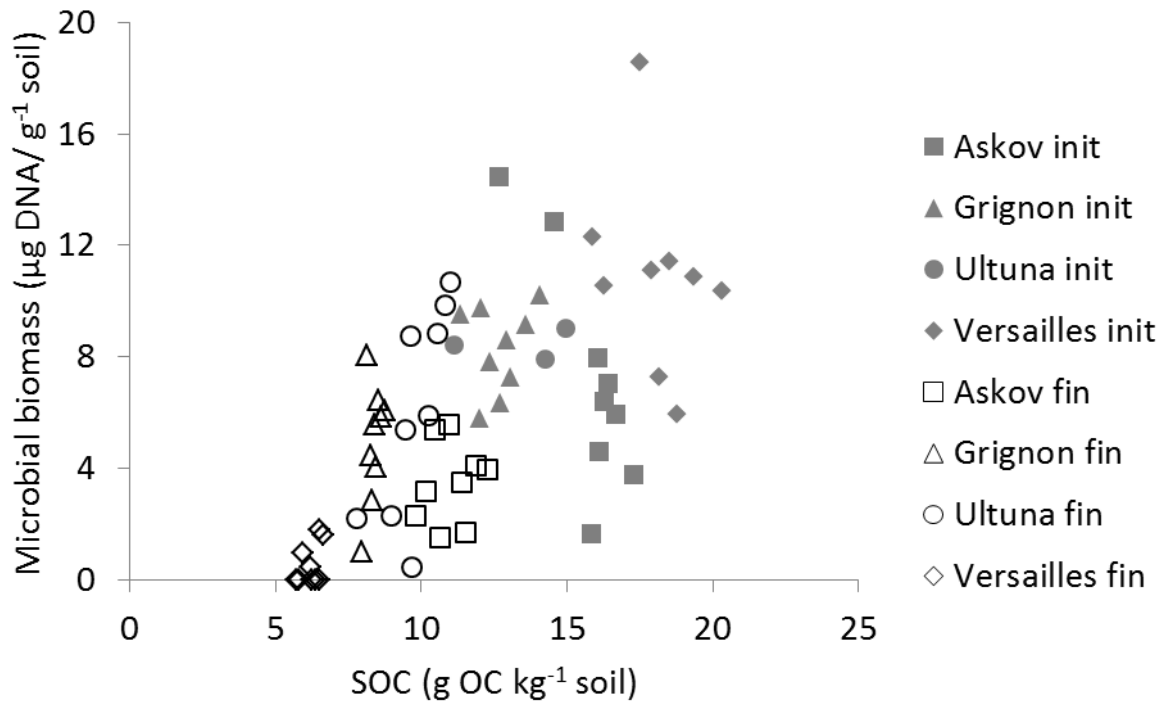


Figure 28 : Relationship between the total microbial “density” estimated by the quantification of microbial DNA and the soil organic carbon content in initial (gray symbols) and final (open symbols) samples of Askov (squares), Grignon (triangles), Ultuna (circles) and Versailles (diamonds) after 427 days of incubation at 4°C 20°C or 35°C.

Source : [Lefèvre et al., 2014]

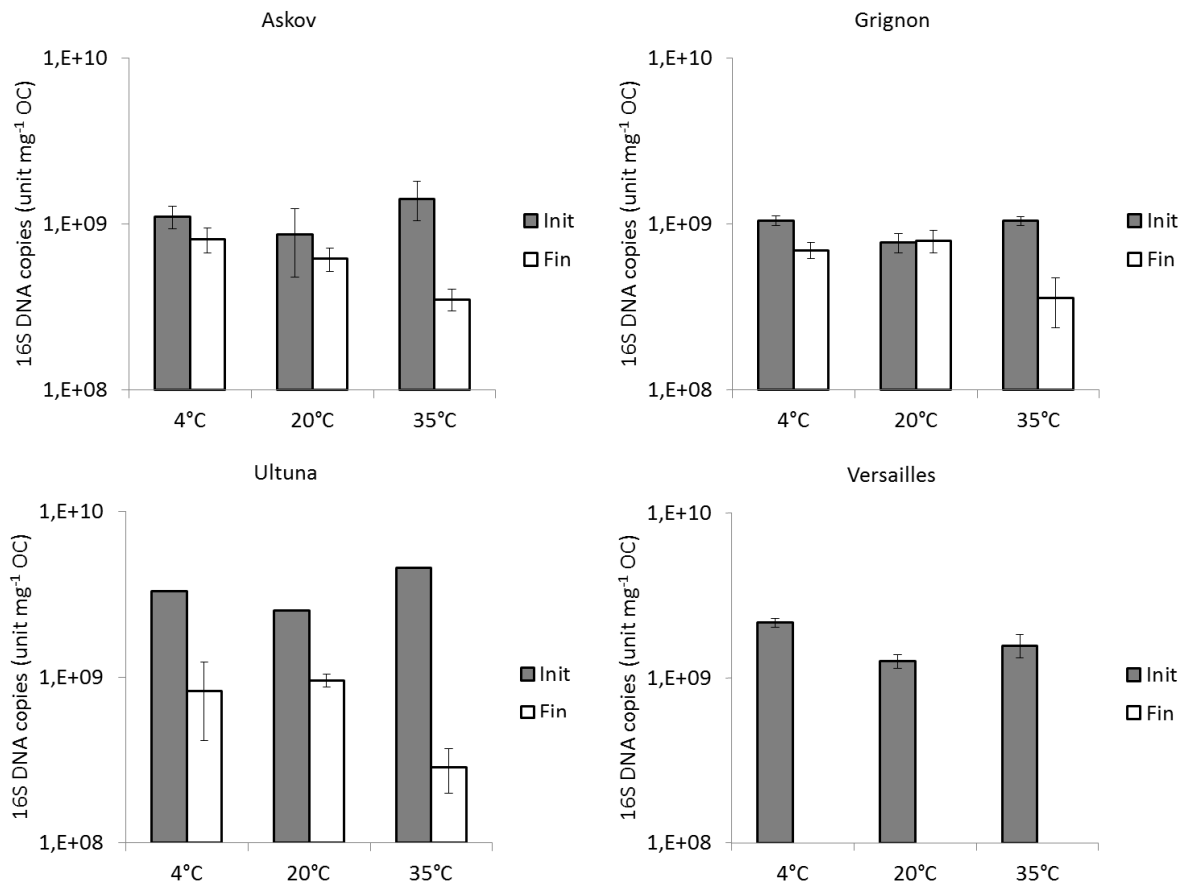


Figure 29 : Bacterial “density” estimated by the quantification of ribosomal genes for initial (gray bars) and final (open bars) plots incubated at 4°C, 20°C and 35°C. Error bars show standard error (n=3, except for Ultuna “Init”).

Source : [Lefèvre et al., (in prep)]

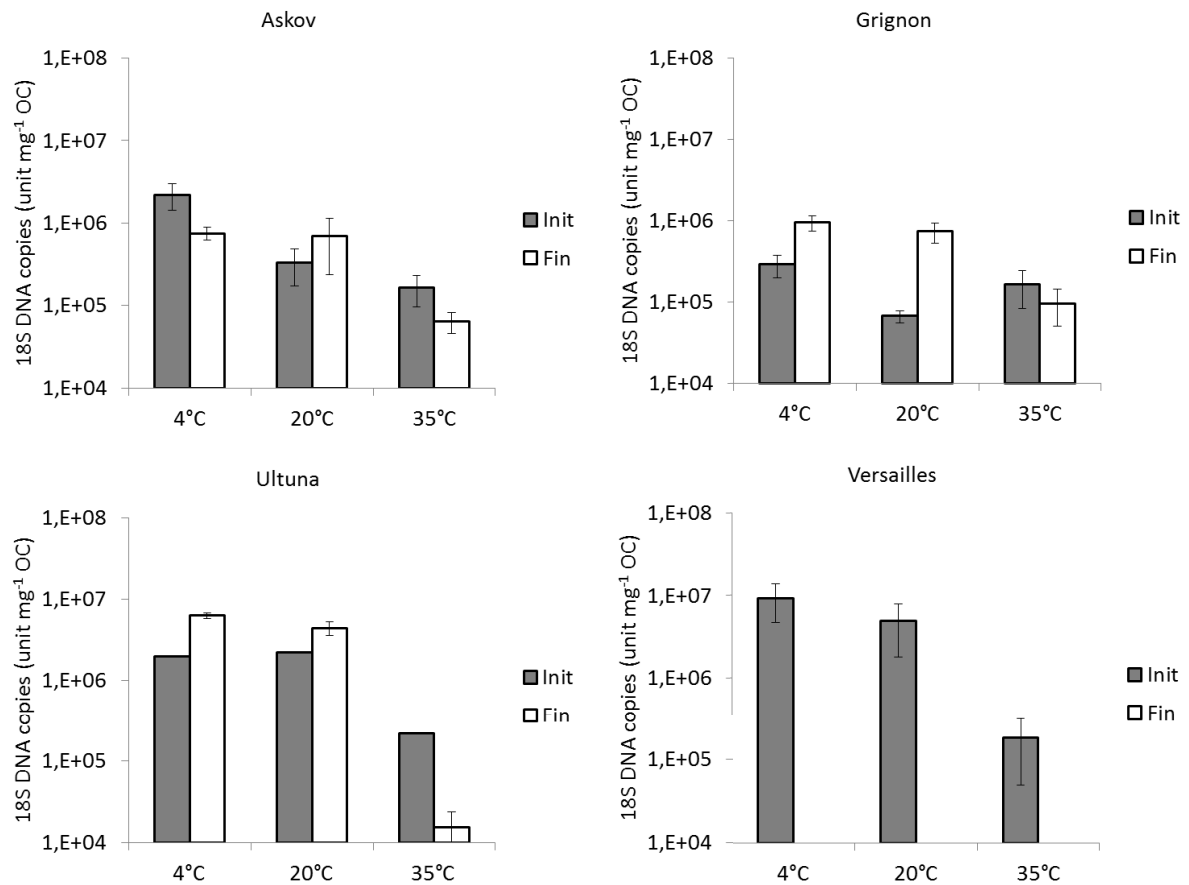


Figure 30 : Fungal “density” estimated by the quantification of ribosomal genes for initial (gray bars) and final (open bars) plots incubated at 4°C, 20°C and 35°C. Error bars show standard error (n=3, except for Ultuna “Init”).

Source : [Lefèvre et al., (in prep)]

Table des illustrations

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Battance importante sur une parcelle maintenue en jachère nue pendant 80 ans et donc fortement appauvrie en MO. | 8 |
| Figure 2 : Variation de l'indice de battance du sol en fonction de sa teneur en matière organique..... | 9 |
| Figure 3 : Les fonctions remplies par les matières organiques du sol..... | 9 |
| Figure 4 : Le cycle du carbone..... | 10 |
| Figure 5 : Décomposition de la matière organique fraîche : minéralisation et humification. ... | 11 |
| Figure 6 : Mécanismes de protection de la matière organique du sol. | 12 |
| Figure 7 : Modèles d'interactions de la matière organique avec les minéraux et les agrégats à différentes échelles spatiales..... | 17 |
| Figure 8 : Flux de carbone tel qu'ils sont modélisés dans le modèle Rothamsted C (RothC). 20 | |
| Figure 9 : Flux de carbone tel qu'ils sont modélisés dans le modèle Century..... | 20 |
| Figure 10 : Principe de la mesure du renouvellement de la MOS grâce à l'abondance naturelle en ¹³ C..... | 22 |
| Figure 11 : Schéma de la cinétique de décroissance théorique de la taille des compartiments du carbone organique du sol après la mise en place d'un essai de jachère nue de longue durée. | 25 |
| Figure 12 : Percentage of SOC mineralized at 20°C after 70 days of incubation of initial and final soil samples from the four sites. White and grey bars refer to initial and final samples respectively. Errors bars represent standard errors. | 46 |
| Figure 13 : Mean respiration rate (year ⁻¹) calculated using the initial 50 mg C kg ⁻¹ soil mineralized at 4°C, 12°C, 20°C and 35°C for the soil from Versailles. White and grey bars refer to initial and final samples respectively. Error bars show standard errors..... | 47 |
| Figure 14 : Activation energy of the initial 50 mg C-CO ₂ g soil ⁻¹ respired during the incubation of soils from individual replicate plots (here termed A, B and C). Error bars represent standard errors. White and grey bars refer to initial and final samples, respectively. For Ultuna only one initial soil replicate was available, and activation energy values for initial samples were all derived from this replicate..... | 48 |
| Figure 15 : Relationship between the mean residence time at 20°C (MRT) and the activation energy (Ea). The equation of the linear regressions between MRT and Ea was: $Ea = 50.6 (\pm 2.0) + 0.84 (\pm 0.12) * MRT$ ($r^2=0.70$, $n=22$, $p<0.0001$)..... | 49 |
| Figure 16 : Relationship between microbial respiration rate at 20°C (log R ₂₀) and the activation energy (log Ea) for the initial 50 mg C-CO ₂ g soil ⁻¹ evolved from the sample. Data from Craine et al. (2010) were also plotted (white triangles). | 50 |
| Figure 17 : Microbial biomass for initial (gray bars) and final (open bars) plots incubated at 4°C, 20°C and 35°C. Error bars show standard error (n=3, except for Ultuna "Init")..... | 67 |
| Figure 18 : Principal component analysis of the bacterial community structure of initial samples incubated at 4°C (I_4C), 20°C (I_20C), and 35°C (I_35) and final samples incubated at 4°C (F_4), 20°C (F_20C), and 35°C (F_35). | 72 |
| Figure 19 : Relative abundance of the more representative bacterial phyla at Askov, Grignon, Ultuna and Versailles for initial and final plots and at 4°C, 20°C and 35°C..... | 73 |
| Figure 20 : Relative abundance of the more representative fungal phyla at Grignon and Versailles for initial and final plots and at 4°C, 20°C and 35°C..... | 74 |
| Figure 21 : Evolution of the organic carbon content in the bulk (closed symbols) and in the clay-size fraction (open symbols) with the bare fallow duration. | 92 |
| Figure 22 : Evolution of the radiocarbon content in the bulk (closed symbols) and in the clay-size fraction (open symbols) with the bare fallow duration..... | 94 |

| | |
|---|-----|
| Figure 23 : Simulation of the potential non-algal carbon ageing in the clay size fraction through three different scenario of algal carbon input. Total clay represents the measured ¹⁴ C content..... | 97 |
| Figure 24 : Cadre de travail possible pour la compréhension des mécanismes influençant la vitesse de minéralisation de la MOS et sa sensibilité à la température à travers l'équation d'Arrhenius. | 101 |
| Figure 25 : Schéma des principales voies de dégradation de polymères végétaux dans les tourbières hautes -arctique de Svalbard..... | 104 |
| Figure 26 : Photographie de la fraction >2mm d'un échantillon de sol provenant de l'essai de jachère nue de longue durée de Versailles..... | 106 |
| Figure 27 : Photographie de la surface d'une parcelle de l'essai de jachère nue de longue durée de Versailles. Des développements d'algues (en vert) y sont visibles. | 107 |
| Figure 28 : Relationship between the total microbial "density" estimated by the quantification of microbial DNA and the soil organic carbon content in initial (gray symbols) and final (open symbols) samples of Askov (squares), Grignon (triangles), Ultuna (circles) and Versailles (diamonds) after 427 days of incubation at 4°C 20°C or 35°C. | 134 |
| Figure 29 : Bacterial "density" estimated by the quantification of ribosomal genes for initial (gray bars) and final (open bars) plots incubated at 4°C, 20°C and 35°C. Error bars show standard error (n=3, except for Ultuna "Init"). | 135 |
| Figure 30 : Fungal "density" estimated by the quantification of ribosomal genes for initial (gray bars) and final (open bars) plots incubated at 4°C, 20°C and 35°C. Error bars show standard error (n=3, except for Ultuna "Init"). | 136 |

Table des tableaux

| | |
|---|-----|
| Tableau 1: Estimateurs de la sensibilité à la température de la minéralisation de la matière organique du sol retrouvés dans la littérature. | 28 |
| Tableau 2: Exemples des différentes expressions du Q_{10} retrouvées dans la littérature. | 29 |
| Table 4: Selected site characteristics. Numbers in brackets are standard errors..... | 61 |
| Table 5: Bioinformatic parameters and databases used in the analysis of pyrosequencing results..... | 65 |
| Table 6: Mean values for organic carbon organic content (in gC kg^{-1} soil) of the initial and final samples after 427 days of incubation at 4°C , 20°C and 35°C . Numbers in brackets are standard errors..... | 66 |
| Table 7: Mean values for bacteria to fungi ratios of the initial and final samples after 427 days of incubation at 4°C , 20°C and 35°C . Numbers in brackets are standard errors. | 68 |
| Table 8: Mean values for bacterial Simpson index, richness and evenness of the initial and final samples after 427 days of incubation at 4°C , 20°C and 35°C . Numbers in brackets are standard errors..... | 71 |
| Table 9: Mean values for fungal Simpson index, richness and evenness of the initial and final samples after 427 days of incubation at 4°C , 20°C and 35°C . Numbers in brackets are standard errors..... | 71 |
| Table 10: Parameters values used for the three scenario of algal carbon incorporation implemented into the Henin-Dupuis' model..... | 91 |
| Table 11: Estimation of the char content with the bare fallow duration (from Vasilyeva et al. in prep)..... | 93 |
| Table 12: Radiocarbon content expressed as percent of modern carbon (pMC) in the bulk and radiocarbon partitioning in a 2 compartments model (chars and non-chars) and in a 3 compartments model (chars, non-chars clay-size fraction and non-chars silt-sand size fraction). #: estimated values from the data..... | 96 |
| Table 13: Selected properties of the incubated soils including plot number (Plot), bare fallow duration (BF; years), mean annual temperature (MAT; $^{\circ}\text{C}$), C and N contents (mg g^{-1} soil), C/N ratio, soil texture, activation energy calculated on the initial $50 \text{ mg C-CO}_2 \text{ g soil}^{-1}$ (E_a ; kJ mol^{-1}), decomposition rate of the first $50 \text{ mg C-CO}_2 \text{ g soil}^{-1}$ (k_{20} ; year^{-1}) and specific respiration rate at 20°C (R_{20} ; $\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ OC h}^{-1}$). | 133 |

Résumé :

Les sols constituent un réservoir de carbone deux à trois fois plus grand que l'atmosphère et des modifications positives ou négatives du stock de C du sol peuvent influencer significativement la concentration en CO₂ atmosphérique. Dans ce contexte, comprendre le devenir du carbone du sol stable à une échelle pluri-décennale, qui représente la plus grande partie du C du sol, dans un environnement globalement plus chaud est un défi majeur pour prévoir la concentration future en CO₂ atmosphérique. Pour cela il apparaît nécessaire de mieux comprendre ce qu'est ce carbone organique stable à l'échelle pluri-décennale et comment sa cinétique de minéralisation est modulée par la température. La présente thèse contribue à ce double challenge grâce à l'utilisation d'échantillons particulièrement pertinents (les échantillons issus d'expérience de jachère nue de longue durée) étudiés à l'aide de techniques de pointe (pyroséquençage, datation ¹⁴C).

Quatre essais de jachère nue de longue durée européens, ainsi que leurs collections de sols archivés respectives, ont été utilisés dans le cadre de cette thèse. Dans un premier temps, des échantillons prélevés en début de chaque essai et après plusieurs décennies de jachère nue ont été incubés à différentes températures pendant 427 jours. La respiration de ces échantillons a été suivie régulièrement. En fin d'incubation, la structure des communautés microbiennes a été déterminée par pyroséquençage. D'autre part, une datation au carbone 14 du carbone organique contenu dans les échantillons de la chrono-séquence de l'essai de jachère nue de Versailles (79 ans de jachère nue) a été réalisée sur le sol total, ainsi que sur la fraction <2µm et sur des particules grossières de charbon présent sur ce site. Ces datations avaient pour but de déterminer si le C organique stable à l'échelle pluri-décennale est nécessairement du C vieux.

Les résultats obtenus mettent en évidence une relation générale entre vitesse de minéralisation du carbone organique et sa sensibilité à la température. Ces travaux ont également mis en lumière une plus grande diversité des communautés microbiennes associées au carbone stable avec néanmoins une plus grande vulnérabilité de ces communautés microbiennes à une hausse de la température. Certains phyla bactériens ont été particulièrement sensibles à l'augmentation de température et à la raréfaction de la ressource trophique. Enfin, cette thèse a mis en lumière les difficultés rencontrées lors de l'utilisation de la technique de datation de la matière organique du sol par le ¹⁴C. En effet, cette technique est particulièrement sensible à deux paramètres mal contraints dans le cas de la jachère nue de Versailles : la quantité de charbons géologiques et la quantité (même très faible) d'apports de matière organique très enrichie en ¹⁴C au cours de la jachère nue. En conséquence, le lien stabilité et âge du carbone organique du sol n'a pas pu être établi clairement dans ce travail.

Cette thèse ouvre de nombreuses perspectives. En particulier, une explication mécaniste de la relation vitesse de minéralisation du carbone organique et sensibilité à la température est toujours manquante. De même, des efforts de recherche devront être menés pour comprendre les implications potentielles de l'appauvrissement des sols ou de l'augmentation de la température sur la structure des communautés microbiennes ainsi que sur le fonctionnement des cycles du carbone et des nutriments.

Mots clés : [Dynamique du carbone ; Sensibilité à la température ; Microorganismes du sol ; Essais de jachère nue ; ¹⁴C ; Incubation]

[Stable soil organic matter: dynamics and mechanisms of (de)stabilization]

Abstract :

Soils contain two-three times more carbon than the atmosphere and positive or negative changes of soil C stocks can significantly affect the atmospheric CO₂ levels. In this context, to understand the fate of soil organic carbon stabilized at the pluri-decennial scale in a warmer world is a major challenge to be able to predict future atmospheric CO₂ concentrations. To do so, it is of prime importance to understand what the soil organic carbon stable at the pluri-decennial scale is exactly and how its mineralization rate is modulated by temperature. This thesis contributes to these challenges thanks to relevant soil samples from long term bare fallow experiments studied using advanced techniques such as pyrosequencing and radiocarbon dating.

Four long term bare fallow experiments, and their associated collections of archived soil samples, were used for work. We first incubated soils sampled at the beginning of each experiment and after several decades of bare fallow at different temperatures for 427 days and we regularly monitored soil respiration. At the end of the incubation, soil microbial communities were assessed using pyrosequencing techniques. Finally, we determined the age of soil organic carbon by radiocarbon dating in the bulk soil, the fraction <2μm and char particles from the chrono-sequence located at Versailles, France. These measurements were made in order to establish if stable carbon is necessarily old or not.

The results obtained brought evidence for a general relationship between the mineralization rate of soil organic carbon and its temperature sensitivity. We also found that microbial communities linked to stable organic carbon are more diverse but also more sensitive to a temperature increase. Some bacterial phyla were particularly impacted by the temperature increase and the organic resource rarefaction. Finally, this thesis highlighted the difficulties met with the radiocarbon dating technique. Indeed, this technique is particularly sensitive to two poorly constrained parameters in our case study which are the amount of geological chars and the little inputs of fresh and radiocarbon enriched organic matter during the bare fallow experiment. As a consequence, the link between soil organic carbon stability and its age can not be established here.

This work opens many perspectives. First, a mechanistic explanation of the relationship between the mineralization rate of soil organic carbon and its temperature sensitivity is still lacking. Likewise, efforts should be done in order to understand the potential impact of soil carbon and nutrients depletion or temperature increase on soil microbial communities and how changes in soil microbial communities can affect carbon and nutrients cycling in soils.

Keywords : [Carbon dynamics ; Temperature sensitivity ; Soil microorganisms; Long-term bare fallow experiments ; ¹⁴C ; Incubation]