



HAL
open science

**Priming-effect : vers un mécanisme universel de contrôle
du bilan stockage-déstockage du carbone organique.
Approfondissements théoriques, généralisation aux
milieux aquatiques et cultivés**

Raphaël Guttières

► **To cite this version:**

Raphaël Guttières. Priming-effect : vers un mécanisme universel de contrôle du bilan stockage-déstockage du carbone organique. Approfondissements théoriques, généralisation aux milieux aquatiques et cultivés. Biodiversité et Ecologie. Sorbonne Université, 2018. Français. NNT : 2018SORUS497 . tel-02613651

HAL Id: tel-02613651

<https://theses.hal.science/tel-02613651>

Submitted on 20 May 2020

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.

Sorbonne Université

ECOLE DOCTORALE 227

"SCIENCE DE LA NATURE ET DE L'HOMME : ÉCOLOGIE ET ÉVOLUTION"

Priming-effect : vers un mécanisme universel de contrôle du bilan stockage-déstockage du carbone organique. Approfondissements théoriques, généralisation aux milieux aquatiques et cultivés

Thèse d'Ecologie

Présentée par
Raphaël GUTTIÈRES

Pour obtenir le grade de
DOCTEUR de Sorbonne Université

Réalisée sous la direction de Luc Abbadie & Gérard Lacroix

Soutenue publiquement le 28 Septembre 2018

Devant le jury composé de :

Pr. Claire Chenu, Professeure à AgroParisTech	Rapportrice
Dr. Samuel Abiven, Researcher & Lecturer, Université de Zurich	Rapporteur
Dr. Sylvie Derenne, Directrice de Recherche au CNRS	Examinatrice
Dr. Tanguy Daufresne, Chargé de Recherche, à l'INRA	Examineur
Dr. Gérard Lacroix, Chargé de Recherche au CNRS	Co-directeur de thèse
Pr. Luc Abbadie, Professeur à Sorbonne Université	Directeur de thèse

REMERCIEMENTS

—

En premier lieu, je tiens à adresser mes remerciements à celles et ceux qui vont investir de leur temps pour lire et évaluer ce travail de thèse de doctorat, i.e. les membres de mon jury de thèse.

Pour le reste des remerciements, c'est un exercice bien délicat, surtout à cette heure-ci. Sans importance scientifique mais socialement capital ... c'est bien souvent la seule chose que l'on regarde. Or, bien trop nombreux sont celles et ceux que je devrais remercier individuellement, donc je vais rester impersonnel, pour une question de temps :

Si, comme l'eût dit un jour Démocrite :

« *Tout ce qui existe dans l'univers est le fruit du hasard et de la nécessité* »,

Alors il me suffit de remercier ces deux propriétés supposées de l'univers, qui m'ont amenées jusqu'ici, à interagir avec vous-toutes et tous, avant et pendant cette thèse, à bénéficier de vos conseils, votre bienveillance, votre aide, votre soutien. **Merci**

Deux exceptions toutefois :

Un « merci » que je dédie à [Edward A. Murphy Jr.](#) et à sa loi qui m'a fidèlement accompagnée tout au long de cette thèse, et sans l'aide de laquelle je n'aurais pas pu savourer pleinement une année supplémentaire.

Pour corollaire, un merci sincère à [Marc Aurèle](#) sans les pensées de qui j'aurais peut-être abandonné à plusieurs reprises cette belle entreprise.

Préambule

Cette thèse correspond à la synthèse de mes recherches effectuées au laboratoire iEES-Paris depuis bientôt quatre années. Ce travail avait pour objectif général de déterminer si le *priming effect* est un processus universel qui a lieu à la fois dans les sols et dans les milieux aquatiques, en prenant en compte ses conséquences concrètes, tant pour les questions de changements climatiques que d'agroécologie.

L'idée initiale était de réaliser deux expérimentations principales. La première, en milieu terrestre, sous différentes conditions de températures, de stoechiométrie et de gestion des résidus de récolte; la seconde en milieu aquatique, également sous différentes conditions de températures et de stoechiométrie. Le paramétrage des différentes expérimentations devaient permettre i) de tester différentes hypothèses émises et ii) de les rendre comparables entre elles avec une certaine cohérence afin de répondre à l'hypothèse globale de généralité du processus.

Malheureusement, du fait de contraintes matérielles, techniques et logistiques totalement indépendantes de notre volonté, la partie aquatique, qui aurait dû être réalisée assez tôt dans le cadre de ma thèse, a été la dernière effectuée. La plupart des analyses nécessaires à son interprétation, qui devaient être réalisées en collaboration avec des équipes internes et externes au laboratoire, ne pouvaient alors plus être réalisées dans le temps imparti du fait, entre autres, des autres obligations des différentes équipes partenaires. Je ne peux discuter à ce stade que des éléments préliminaires sur le *priming* aquatique, ce qui m'a contraint à en limiter le développement dans le texte qui suit et à remanier la structure initiale de la thèse. Etant donné le temps et l'énergie alloué à cette partie en termes d'expérimentation, j'ai cependant tenté de la développer autant que faire se peut, en y présentant et discutant les quelques résultats déjà acquis.

Ce manuscrit de thèse débute donc par une synthèse (**chapitre 1**), replaçant l'étude dans son contexte général, et décrivant les principes de base biogéochimiques relatifs au stockage et déstockage de la matière organique, plus spécifiquement du C, en écologie et agroécologie. Le **chapitre 2** présente les objectifs et hypothèses de la thèse. Le **chapitre 3** traite des résultats de l'expérimentation terrestre sous deux angles de vue : celui des pratiques agricole et d'usage des terres, et celui des changements globaux. Il y est également discuté une importante partie méthodologique sur les problèmes expérimentaux rencontrés, avant d'arriver sur une discussion générale. Enfin, le **chapitre 4** présente quant à lui la partie aquatique, les deux expérimentations qui ont été menées, ainsi que les perspectives que l'on peut tirer des résultats déjà acquis.

Résumé

Cette thèse a pour but de comprendre le degré de généralité d'un processus biogéochimique lié à la dynamique du carbone, le « Priming Effect » (PE). Ce processus fut initialement étudié dans les sols avant d'être identifié en milieu aquatique. Il peut être défini dans les deux types de milieux comme la modification (augmentation ou diminution) du taux de minéralisation de la matière organique stabilisée par l'addition de matière organique labile. L'objectif du présent travail a été de tester la réponse du PE dans le contexte des changements globaux ainsi que dans celui des pratiques agricoles. Une première expérimentation en sol agricole a testé l'hypothèse énergétique en jouant sur la qualité de la matière organique apportée. Les résultats ont permis de confirmer le rôle central de l'aspect énergétique de l'apport de matière organique dans les sols en démontrant que les résidus végétaux frais induisaient une surminéralisation (PE) du carbone de la matière organique du sol huit fois supérieure à son équivalent pré-décomposé. Dans cette même expérimentation, la réponse du PE à une augmentation de température, une augmentation de la disponibilité en nutriments ainsi qu'à un changement de couverture des sols (couvert agricole vs. couvert forestier) a été testée. Il en ressort un fort effet de la température sur la minéralisation basale des sols, mais pas d'effet sur le PE. Ce dernier semble réagir d'avantage à la disponibilité en énergie ainsi qu'au type de couvert végétal. En parallèle de cette partie terrestre, deux expérimentations aquatiques ont été menées, testant l'impact des changements de stoechiométrie, de température et de disponibilité en matière organique labile sur les interactions entre le compartiment des décomposeurs et celui des producteurs primaires. Peu de résultats sont disponibles à ce jour et aucune conclusion définitive sur la réponse du PE n'est établie pour le moment. Cependant, on a pu mettre en évidence l'importance relative des flux de carbone en provenance des différents compartiments biotiques de nos systèmes. Une importante mixotrophie algale a ainsi été démontrée, nous amenant à reconsidérer le rôle des producteurs primaires dans la partie aquatique de la dynamique du cycle du carbone, et donc leur rôle potentiel dans le PE dans un contexte de réchauffement climatique et d'érosion des surfaces continentales. Des analyses complémentaires sur les échantillons stockés et une approche de modélisation en cours de développement permettront d'identifier les éventuelles singularités du PE en milieu aquatique par rapport au milieu terrestre. Sur son versant terrestre, cette thèse a permis de suggérer une démarche agroécologique de gestion des stocks de carbone dans les sols, ainsi que de mettre en évidence le rôle majeur de l'état de décomposition des résidus végétaux sur l'intensité du PE.

Abstract

This thesis aims to understand the degree of genericity of a biogeochemical process related to carbon dynamics, the "Priming Effect" (PE). This process was initially studied in soils before being identified in the aquatic environment. It can be defined in both types of environments as the modification (increase or decrease) of the mineralization rate of the organic matter stabilized by the addition of labile organic matter. The objective of this work was to test the PE response in the context of global changes as well as in the context of agricultural practices. A first experiment in agricultural soil tested the energy hypothesis by playing on the quality of the organic matter brought. The results confirmed the central role of the energetic aspect of organic matter input in soils by demonstrating that fresh plant residues induce over-mineralization (PE) of soil organic matter eight times higher than its pre-decomposed equivalent. In this same experiment, the responses of the PE to a temperature increase, an increase in nutrient availability and a change in soil cover (agricultural cover vs. forest cover) were tested. This shows a strong effect of temperature on basal soils mineralization, but no effect on PE. The latter seems to react more to the availability of energy and the type of vegetation cover. In parallel with this terrestrial part, two aquatic experiments were conducted, testing the impact of changes in stoichiometry, temperature and availability of labile organic matter on the interactions between the decomposers compartment and that of the primary producers. Few results are available to date, and no definitive conclusion on the PE response is currently available. However, it has been possible to highlight the relative importance of carbon fluxes from the different biotic compartments of our systems. A significant algal mixotrophy has thus been demonstrated, leading us to reconsider the role of primary producers in the aquatic part of the carbon cycle dynamics, and therefore their potential role in the PE in the context of global warming and continental surfaces erosion. Complementary analyzes of the stored samples and a modeling approach under development will make it possible to identify the possible singularities of PE in the aquatic environment with respect to the terrestrial environment. On its terrestrial side, this thesis has suggested an agroecological approach of management of carbon stocks in soils, as well as to highlight the major role of the state of decomposition of plant residues on the intensity of the PE.

Liste des acronymes

Afin de ne pas induire de confusion, les acronymes utilisés pour toute la thèse sont ceux des articles, i.e. en anglais

COP21/CMP11	Conference Of the Parties
DeOM	Pre- D ecomposed Organic Matter
SDIC DI ¹³ C	Dissolved Inorganic Carbon
DNA	DesoxyriboNucleic Acid
DOC DO ¹³ C	Dissolved Organic Carbon
DON	Dissolved Inorganic Nitrogen
DS	Decomposed Straw
ESM	Earth System Model
FOM	Fresh Organic Matter
FS	Fresh Straw
GES	Green House Gases
Giec = ipcc	Intergovernmental Panel on Climate Change
N	Nitrogen
OC	Organic Carbon
OM	Organic Matter
P	Phosphorus
PE	Priming Effect
PFA	ParaFormAldéhyde
POC	Particulate Organic Carbon
PON	Particulate Organic Nitrogen
POP	Particulate Organic Phosphorus
qPCR	quantitative Polymerase Chain Reaction
RPE	Ryzhospheric Priming Effect
SOC	Soil Organic Carbon
SOM	Soil Organic Matter
TOC	Total Organic Carbon
WHC	Water Holding Capacity
δ ¹³ C	Rapport entre les isotopes ¹³ C/ ¹² C exprimé en ‰, vis-à-vis du standard PDB (Pee Dee Belemnite)

SOMMAIRE

Remerciements	3
Préambule	4
Résumé	5
Abstract	6
Liste des acronymes	7
CHAPITRE 1 Le concept de priming effect	11
1.1 Déterminants de l'accumulation du carbone organique	13
1.1.1 En milieu terrestre	14
1.1.2 En milieu aquatique	16
1.2 Agir sur le cycle du carbone en milieu terrestre	17
1.3 Théories du priming effect en milieu terrestre	19
1.3.1 Historique et définition	19
1.3.2 Stratèges r et stratèges K – bactéries et champignons	20
1.3.3 Co-occurrence de la décomposition stœchiométrique et du nutrient mining ?	23
1.3.4 Dimension spatiale du priming effect	24
1.3.5 Priming effect positif vs. négatif	26
1.3.6 Dimension évolutive du priming effect	27
1.4 Biais et limites méthodologiques de l'étude du priming effect en milieu terrestre	29
1.4.1 Priming effect apparent	29
1.4.2 Equivalence entre minéralisation et décomposition	31
1.4.3 Hétérogénéité des signatures isotopiques	32
1.5 Théories du priming effect en milieu aquatique	34
1.6 Difficultés méthodologiques d'étude du priming effect en milieu aquatique	36
1.7 Priming effect et changement globaux	37
1.7.1 Effet de la température	37
1.7.2 Effet de la stoechiométrie	41
1.7.3 Conclusion sur les effets des changements globaux sur le priming effect	47

CHAPITRE 2 Objectifs et plan de la thèse	49
2.1. Objectifs spécifiques au milieu terrestre	49
2.2. Objectifs spécifiques en milieu terrestre	50
CHAPITRE 3 Le priming effect en milieu terrestre	53
3.1. Composting crop residues before their return to soils increases carbon sequestration in agroecosystems (article manuscript)	55
3.2. Temperature and soil management effects on carbon fluxes and priming effect intensity (article manuscript)	71
3.3. Discussion supplémentaire concernant les différences observées en sol agricole et sol forestier	92
3.4. Difficultés méthodologiques rencontrées avec les feuilles de <i>Liquidambar</i>	94
CHAPITRE 4 Le priming effect en milieu aquatique	101
4.1. Fractionnement isotopique et impact de la mixotrophie	107
4.1.1 Objectifs et principe général de l'expérience	107
4.1.2 Matériel et méthodes	110
4.1.3 Résultats préliminaires	117
4.1.4 Discussion	121
4.2. Changements globaux & priming effect aquatique	125
4.2.1 Objectifs et principe général de l'expérience	126
4.2.2 Système de culture : chémostat	130
4.2.3 Matériel et méthodes	130
4.2.4 Résultats préliminaires	136
4.2.5 Discussion	137
4.2.6 Perspectives	142
Conclusions & perspectives générales	145
Références bibliographiques	147
Box.1 Stabilité de la matière organique	169

CHAPITRE 1 : *Le concept de priming effect*

En écologie, les cycles biogéochimiques sont une façon d’appréhender le système Terre par le biais des processus de transport et de transformation des combinaisons d’éléments chimiques (C, O, N, P...etc). Ces flux sont étudiés entre les réservoirs que sont la biosphère, la lithosphère l’hydrosphère et l’atmosphère, et passent par des étapes minérales et organiques. De ces cycles et des interactions plus ou moins étroites qu’ils entretiennent, il émerge une homéostasie globale du système Terre, c’est à dire une certaine capacité d’auto-régulation (résilience et résistance) – exception faite de l’irruption d’événements exceptionnels, géoclimatiques ou anthropiques.

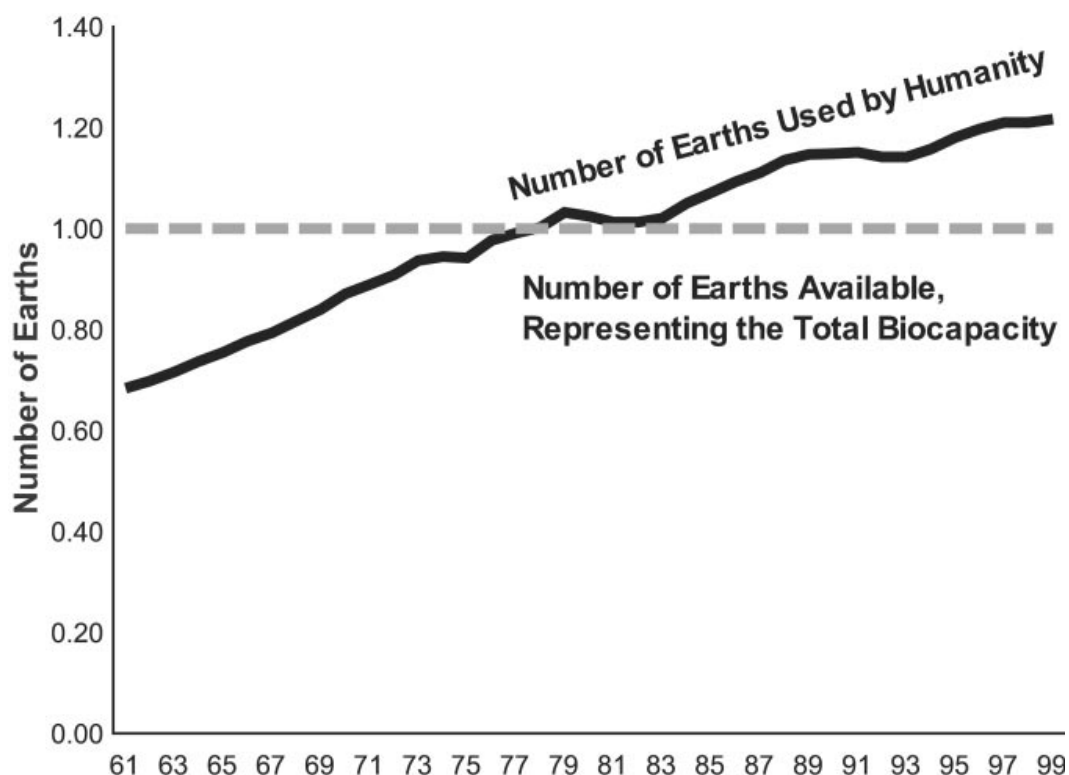


Fig. T1. Time trend of humanity’s ecological demand. This graph shows human demand over the last 40 years as compared with the earth’s ecological capacity for each year. One vertical unit in the graph corresponds to the entire regenerative capacity of the earth in a given year. Human demand exceeds nature’s total supply from the 1980s onwards, overshooting it by 20% in 1999. If 12% of the bioproductive area were set aside to protect other species, the demand line crosses the supply line in the early 1970s rather than the 1980s. From ([Wackernagel et al. 2002](#))

Au cours des 200 dernières années, les activités humaines ont considérablement modifiées le cycle global du carbone ([Falkowski 2007](#)), et le dernier rapport du [GIEC \(2014\)](#) a

établi que plus de la moitié de l'augmentation de la quantité de carbone dans l'atmosphère observée de 1951 à 2010 était due à l'émission de gaz à effet de serre (GES) d'origine anthropique. Le lien étroit entre les GES carbonés – notamment le CO₂ - et les paramètres climatiques, dont la température, ont été révélés depuis plus de 120 ans ([Arrhenius 1896](#); [Falkowski et al. 2000](#)). Malheureusement, les intérêts socio-économiques court-termistes de certains ont freiné l'émergence d'une prise de conscience collective et on conduit à la persistance d'un « business as usual » et à une longue période d'atermoiements ([Arrow et al. 1995](#); [Wackernagel et al. 2002](#); [Cifci & Oliver 2018](#); [Moghadam & Dehbashi 2017](#)) (Fig. T2), amenant ainsi l'humanité à dépasser les capacités écologiques de la planète ([Arrow et al. 1995](#); [Wackernagel et al. 2002](#); [Rockström et al. 2009](#)) (Fig.T1).

Construire une autre trajectoire de développement est l'un des plus grands défis scientifiques et politiques du 21ème siècle. Certains cercles de pouvoir commencent à s'emparer sérieusement de la question, comme en témoigne les mobilisations intergouvernementales dont la COP21/CMP11 où un accord international sur le climat, applicable partout, fut pour la première fois validé par tous les pays participants (195) en 2015. Parmi les outils cruciaux de construction d'une véritable transition écologique de la société figurent la meilleure compréhension des mécanismes biologiques fondamentaux régulant les flux de C entre les différents compartiments terrestres, ainsi que l'identification de la réponse de ces flux aux changements climatiques et des rétroactions qu'ils peuvent exercer sur le climat, ce qui pourrait par conséquent amplifier ou atténuer le changement climatique mondial ([Bardgett et al. 2008](#); [Heimann & Reichstein 2008](#)).

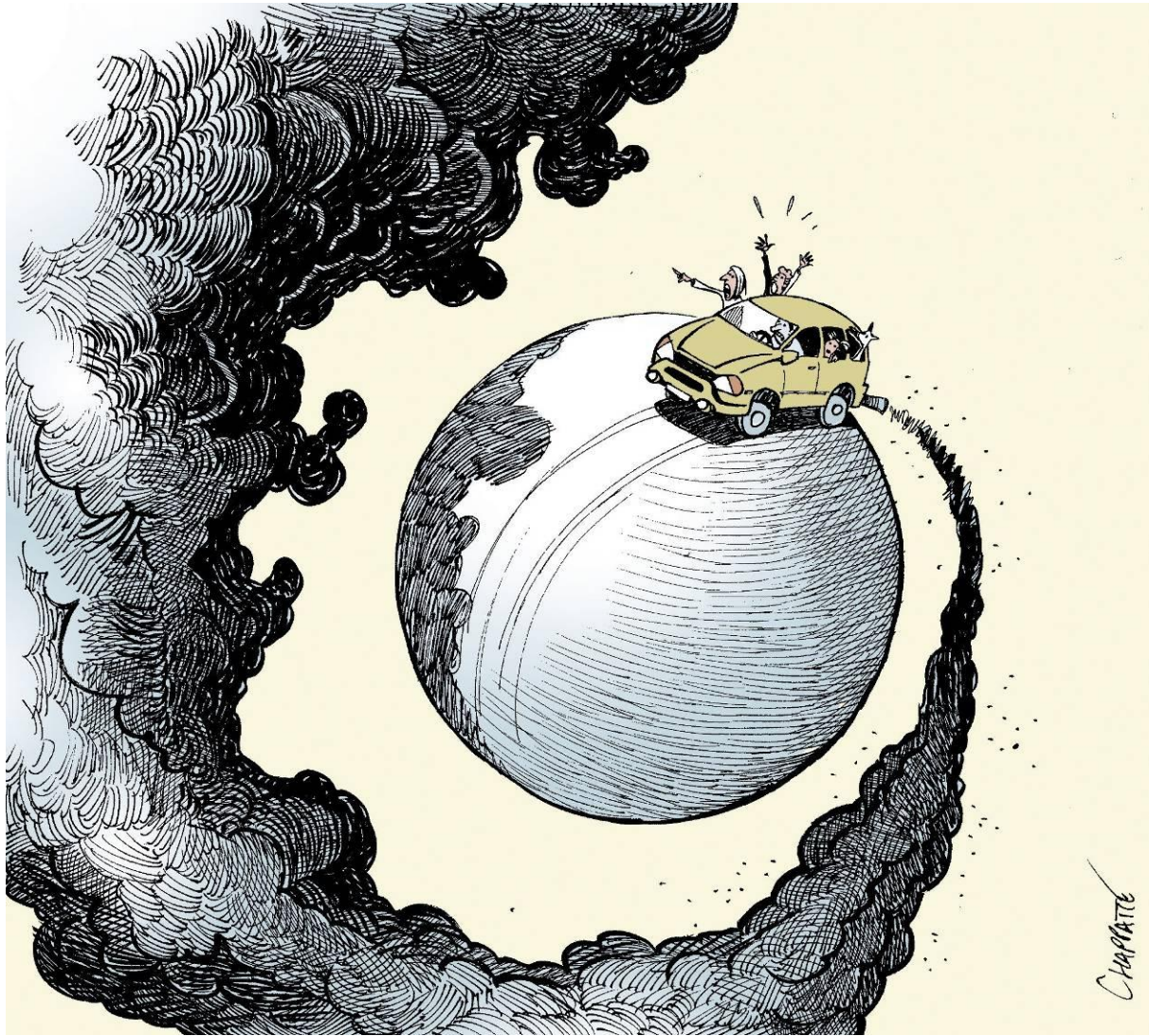


Fig. T2. Caricature par Patrick Chappatte (www.chappatte.com)

1.1. Déterminants de l'accumulation du carbone organique

La prédiction des réponses du cycle du carbone aux perturbations qui affectent les écosystèmes est un enjeu majeur pour de nombreuses problématiques environnementales et de développement durable. Elle passe par la compréhension des processus de stockage et de déstockage du carbone organique dans les divers compartiments de son cycle, aussi bien en milieu terrestre qu'en milieu aquatique.

1.1.1. En milieu terrestre

Dans les écosystèmes terrestres les stocks de carbone de la végétation et du sol sont trois fois plus élevés que celui de l'atmosphère : leurs dynamiques à court (quelques années) et à moyen termes (quelques dizaines, centaines ou milliers d'années) se traduisent par des rétroactions positives ou négatives sur la composition chimique de l'atmosphère et, par conséquent, sur le climat ([Davidson & Janssens 2006](#)).

Plus spécifiquement, les sols jouent un rôle majeur puisqu'ils représentent le plus important réservoir de C organique sur Terre avec 615 Gt C stockées dans la couche supérieure à 0,2 m et 2344 Gt C pour des profondeurs allant jusqu'à 3 m, ce qui est plus que dans la biomasse et l'atmosphère cumulées ([Jobbágy & Jackson 2000](#)). Par conséquent, étant donnée l'ampleur de ce compartiment, même une légère modification de sa taille peut avoir un impact important sur le climat ([Minasny et al. 2017](#)). Les flux entrants dans le sol (puits de C) proviennent principalement de la production primaire alors que les flux sortants (source de C) sont dus à l'érosion, au lessivage et à la respiration hétérotrophe des décomposeurs. Ces flux sont modulés par différents facteurs tels que la température ([Bardgett et al., 2008](#)), les perturbations naturelles et anthropiques ([Magnani et al. 2007](#)), l'utilisation des terres ([Smith et al. 2008](#)) ou la disponibilité de l'azote ([Beedlow et al. 2004](#)), la diversité végétale, l'herbivorie, etc.. qui ont tous des impacts directs sur l'activité microbienne, mais également indirects via les changements de productivité et de diversité végétale ([Bardgett et al., 2008](#)). La respiration du sol, comme tous processus vivant, est en fait insérée dans un réseau complexe d'interactions à toutes les échelles ([Wardle et al. 2004](#); [Högberg Read 2006](#); [De Deyn et al. 2008](#)).

Mais l'importance du C organique des sols va au-delà de sa dimension purement biogéochimique en cela qu'il est le constituant majoritaire de la matière organique du sol, source d'énergie et de matériaux de synthèse pour tous les organismes de ce milieu. Cette matière influence donc la diversité biologique ainsi que la structure et la dynamique des réseaux trophiques du sol, ainsi que les réseaux trophiques en surface ([Kallenbach & Grandy 2011](#); [Lavelle et al. 2001](#), [Bardgett et al. 2005](#)). La catabolisation du C organique par les microorganismes et les animaux du sol engendre la production de composés minéraux assimilables par les végétaux supérieurs, ce qui module la productivité primaire des écosystèmes ([Wardlee et al., 2004](#)). La matière organique (OM) est une composante clé de la

qualité des sols : elle est l'un des déterminants majeurs de leur fertilité chimique, contribue à la structuration des sols et à leur sensibilité à l'érosion, ainsi qu'à leur capacité à retenir l'eau et les nutriments (Diacono & Montemurro 2010; Guillou et al. 2012) (Fig. T3).

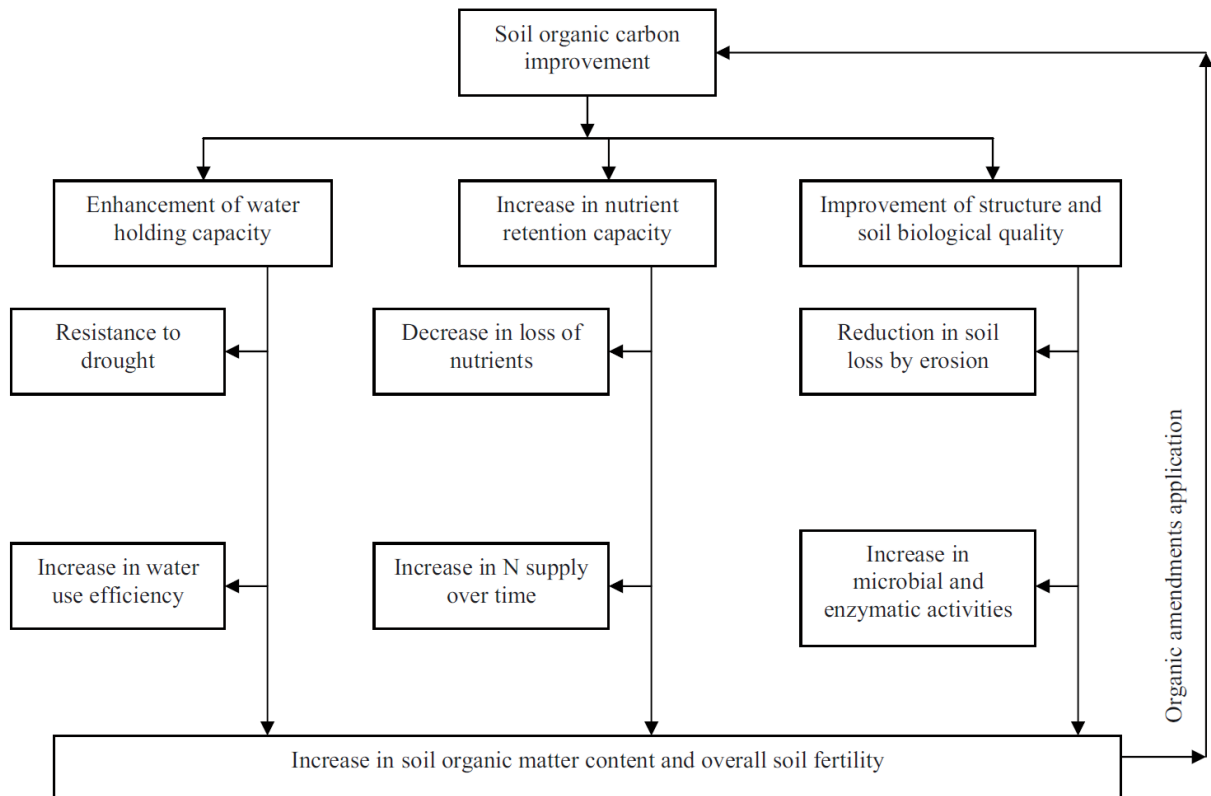


Fig. T3. Diagramme de l'effet de l'augmentation de la teneur en matière organique du sol et de la fertilité globale du sol par l'amélioration du carbone organique du sol. (Tiré de Diacono & Montemurro 2010, adapté de Lal 2006)

La décroissance de leur teneur en carbone organique est considérée comme un mécanisme clé de la dégradation des sols à l'échelon mondiale ainsi qu'une perturbation majeure du cycle du C. Les pertes de C dans les sols agricoles soumis à des pratiques intensives se sont révélées être une cause majeure de perte de fertilité (Kuzyakov 2010), et d'émissions de gaz à effet de serre (Schlesinger & Andrews 2000; Pascault et al. 2013). Cela est particulièrement inquiétant dans le contexte actuel où plus de 37% des surfaces continentales sont allouées à l'agriculture et l'élevage (Smith et al. 2008), et ce chiffre ne cesse d'augmenter, au détriment des forêts (IPCC 2014) dont l'abattage représente lui aussi une catastrophe écologique à part entière (Guo & Gifford 2002; Murty et al. 2002; Foley et al. 2005; Zhang et al. 2005; Malhi et al. 2008). En fonction de leurs propriétés et de l'usage

que nous en faisons ainsi que de la nature des impacts du climat, les sols peuvent se comporter comme des puits ou des sources de gaz à effet de serre, notamment de CO₂ (Lal 2004; Bradford et al. 2017).

1.1.2. En milieu aquatique

Les océans, les eaux douces et leurs sédiments contiennent une quantité de OC (sous forme d'organismes vivants et de carbone dissout et particulaire) du même ordre de grandeur que les continents (Bianchi 2011). La dynamique à court et moyen termes de cette matière organique (OM) induit des rétroactions sur la composition chimique de l'atmosphère et sur le climat. De manière analogue à ce qui est observé pour les sols, dans les sédiments aquatiques la OM est une source d'énergie et de matériaux de synthèse pour les organismes et impacte la dynamique des réseaux trophiques : le catabolisme des décomposeurs aquatiques produit lui aussi des éléments assimilables par le phytoplancton et les végétaux immergés – notamment en minéralisant du C organique en CO₂, en dépolymérisant des molécules organiques complexes et en produisant des éléments minéraux, autant de déterminants de la productivité primaire aquatique.

En milieu aquatique, la sédimentation des OM autochtones (issues de la production primaire aquatique) et allochtones (issues de l'érosion des surfaces continentales) alimente les stocks organiques profonds, constituant ainsi des puits de carbone à long terme (Cole et al. 2007; Tranvik et al. 2009). L'érosion sur les continents peut donc être vue comme un mécanisme de séquestration du carbone. A ce jour, on estime que les activités humaines telles que l'usage des terres et la désertification sont à l'origine de près de 60% de l'érosion totale des sols (Lal 2005; Lal & Pimentel 2008; Yang et al. 2003), ce qui induit une augmentation des flux de carbone vers les systèmes aquatiques : à l'échelle de la biosphère, ces flux [terres → eaux] liés aux actions anthropiques sont de 0,8 Pg C an⁻¹, contre 1,1 Pg C an⁻¹ pour les flux naturels (Regnier et al. 2013). Les divers types de OM dans les systèmes aquatiques couvrent un large gradient de résistance à la dégradation (Jiao et al. 2010).

Or, les molécules considérées comme très récalcitrantes proviennent principalement de la productivité primaire terrestre (Amon & Benner 1996; Thorp & Delong 2002). Toutefois, la proportion de la matière organique autochtone et allochtone qui atteint réellement les

couches profondes de l'océan demeure largement inconnue, et selon les géochimistes, la moitié de la OM disparaît au cours de ce transfert entre continent et sédiments océaniques (Bianchi 2011). Le débat, ouvert depuis plus de 15 ans sur le rôle de l'érosion comme puits ou source de carbone, n'a pas encore débouché sur un consensus (Smith et al. 2001; Lal 2003; Lal 2005; Oost et al. 2007; Lal & Pimentel 2008; Chappell et al. 2012). En effet, les potentiels de décomposition de la OM allochtone sont contrastés : cette OM peut sédimenter jusqu'aux zones anoxiques où sa décomposition est très lente, mais les agrégats stabilisant jusqu'alors physiquement la OM en provenance des sols (Box. 1, page 169) peuvent être délités sous l'action de l'eau et la OM rendue ainsi disponible aux microorganismes, nonobstant son âge et son degré de récalcitrance.

Ainsi, le C terrigène minéralisé dans les lacs et les cours d'eau peut être du C stable, ancien à très ancien (Mccallister & Del Giorgio 2012) (de 1000 à 3000 ans d'âge). La métabolisation de la OM terrigène semble avoir lieu en grande partie au cours du transfert *via* les cours d'eau (Mayorga et al. 2005) et les zones littorales des lacs et des océans (Guenet et al. 2010). En conditions naturelles, ces apports terrigènes sont un facteur majeur de contrôle de la production des systèmes aquatiques (Guenet et al. 2010; Pace et al. 2004; Carpenter et al. 2005; Cole et al. 2006). Dans un contexte de changements climatiques, d'augmentation des surfaces agricoles et d'accélération de l'érosion des sols et des zones côtières, il est indispensable de mieux appréhender le devenir de la MO allochtone en milieu aquatique afin d'en déterminer la contribution quantitative au phénomène de minéralisation du carbone à l'échelle globale et de sa possible rétroaction sur le cycle du carbone.

1.2. Agir sur le cycle du carbone en milieu terrestre

La compréhension fine des processus qui contrôlent la dynamique de la matière organique est une nécessité, à la fois pour la prédiction des flux échangés entre les sols et l'atmosphère et pour l'élaboration de stratégies et de pratiques visant à réduire l'ampleur du changement climatique. Cela a été souligné à de nombreuses reprises dans la perspective d'une meilleure prise en compte de ces processus dans les modèles globaux (global Earth system models - ESMs).

Quant à la “manipulation” de l’étape continentale du cycle du carbone, elle n’est plus une simple perspective mais est devenue une obligation depuis les accords de Paris de 2015, qui prévoient à l’horizon 2050 un équilibre entre les flux d’émission et les flux de séquestration vers la biomasse végétale et les sols.

Agir sur une composante d’un écosystème, en l’occurrence le carbone du sol, revient de fait à agir sur un ensemble complexe, à agir sur un réseau d’interactions entre organismes, entre processus écologiques et évolutifs, à diverses échelles de temps et d’espace. Pour cette raison, notre travail s’est inscrit dans une démarche d’ingénierie écologique, définie par le [CNRS](#) comme « *l’utilisation, le plus souvent in situ, parfois en conditions contrôlées, de populations, de communautés ou d’écosystèmes dans le but de modifier une ou plusieurs dynamiques biotiques ou physico-chimiques de l’environnement dans un sens réputé favorable à la société et compatible avec le maintien des équilibres écologiques et du potentiel adaptatif de l’environnement* ». Ainsi, l’agroécologie telle que nous la concevons est une ingénierie écologique, et fort heureusement, ces concepts tendent à être de plus en plus ancrés dans la réalité de nos pratiques actuelles. Il ne s’agit plus alors de chercher à maximiser les rendements à tout prix, mais plutôt à optimiser nos pratiques de façon réfléchie et durable.

S’inscrivant dans ce mouvement, l’initiative « 4 pour 1000 pour la sécurité alimentaire et le climat » (<http://4p1000.org/>) fut élaborée par le gouvernement Français lors de la COP21. L’objectif est d’accroître à l’échelle mondiale le stock de C dans le sol de 0,4 ‰ ([Paustian et al. 2016](#)), et pourrait se révéler un des leviers majeurs pour atténuer voire stopper l’augmentation de la concentration de CO₂ atmosphérique ([Bradford et al. 2016](#)) au moins pendant quelques décennies. Cela permettrait aussi de conserver ou d’accroître la fertilité des sols ([Freibauer et al. 2004](#); [Minasny et al. 2017](#)) à condition que la matière stockée soit une matière organique évoluée, *i.e.* riche en nutriments ([Batjes & Sombroek 1997](#); [Minasny et al. 2017](#)). Cette année cependant, d’après les résultats de leur modèle, [Lugato et al.](#) ont alerté la communauté scientifique sur les possibles conséquences indirectes que cette augmentation de la séquestration du C dans les sols pourrait avoir à l’horizon de 20-30 années sur l’augmentation des émissions de protoxyde d’azote (N₂O) ([Lugato et al. 2018](#)), un GES lui aussi. Ce type de résultat appelle une fois de plus à la prudence et à la prise en compte de paramètres toujours plus nombreux dans les études expérimentales.

De plus, une discussion sur le bien-fondé du « 4 per mille » s'est tenue dans la revue *Geoderma* au court de cette même année (White et al. 2018; Minasny et al. 2018; Baveye et al. 2018), avec, entre autres arguments, la mise en avant d'un processus biologique qui pourrait, selon les modalités, réduire considérablement la portée des efforts déployés par cette initiative sur la séquestration du C elle-même, et pire encore, un déstockage du C ancien et relativement stable (Baveye et al. 2018). Mais bien qu'il soit encore insuffisamment pris en compte dans les modèles ou sur le terrain, ce processus est toutefois progressivement pris en considération de façon croissante dans les travaux actuels, comme l'ont souligné Chenu et al. (2018) dans une très récente étude où ils alertent la communauté sur les incertitudes liées à ce processus et la nécessité de son étude vis-à-vis des différents enjeux liés au cycle du carbone.

Ce processus potentiellement négatif pour la fertilité des sols et l'intensité du changement climatique, nommé « **priming effect** » (PE), nécessite donc une attention toute particulière et sera l'objet principal du présent travail.

1.3. Théories du priming effect en milieu terrestre

1.3.1. Historique et définition

L'étude du PE est une histoire qui a débutée il y a près d'un siècle. Mis en évidence dans les sols, sa définition a évolué, et les processus qui le sous-tendent ont été peu à peu éclaircis. Comme nous le verrons, le processus a ensuite été pensé au-delà de la sphère des sciences du sol et fut déduit, puis expérimenté et décelé en milieu aquatique. La généralité ainsi suggérée de ce mécanisme de stockage-déstockage du C (entre autres éléments) en font un objet d'étude biogéochimique fascinant, aux retombées potentiellement cruciales en termes de compréhension, de prédiction, mais également d'application à échelle globale comme locale.

La première mise en évidence du PE fut réalisée dans le sol en 1926 par Löhnis qui étudia les effets secondaires de la décomposition d'engrais verts (issus de plantes légumineuses) sur la minéralisation basale de l'azote du sol. Celle-ci a vu son taux augmenter parallèlement à la nitrification de l'azote contenu dans les engrais (Löhnis 1926). Dans certaines études telle celle de Broadbent et Norman (1947), le processus fut mesuré sur l'azote mais

également sur le carbone, et ce dans des proportions impressionnantes quand l'apport de sorgho fourrager multipliait jusqu'à 11 fois la minéralisation basale (Broadbent & Norman 1946). Le terme de *Priming effect* ne fut cependant introduit que 27 ans après sa première observation par l'équipe de Bingeman, dans l'acception suivante : la stimulation du changement du turnover de la SOM via l'apport au sol d'un substrat plus facilement décomposable que la OM native (Bingeman 1953). La méthodologie la plus communément employée pour mettre en évidence le PE s'appuie sur le suivi d'un marquage isotopique différentiel entre les compartiments mis en jeu (voir plus bas).

Le processus de PE ne semble pas être cantonné au N ou au C (Jenkinson et al. 1985; Dalenberg & Jager 1989). Cette sur-minéralisation fut également rapportée pour d'autres éléments de la SOM tels que, entre autres, le P (Fokin and Radzhabova, 1996), le S (O'Donnell et al. 1994; Lefroy et al. 1994; Chapman et al. 1997). Ceci laisse supposer une intéressante universalité du processus ; toutefois, dans le cadre de ce travail de thèse, nous nous focaliserons sur le PE lié au C.

Le PE lié au C ne peut s'étudier ni se comprendre en dehors de la stoechiométrie du système étudié, il y est intrinsèquement lié. Bien qu'encore partielle, la compréhension du PE fait appel à de nombreux autres concepts tels que – entre autres – la loi de Liebig et son concept de facteur limitant (Liebig 1840, Danger et al. 2008), les stratégies évolutives des organismes du sol dont les interactions rendent l'émergence du processus possible (stratégies *r* & *K*) (Mac Arthur & Wilson 1967; Fontaine et al. 2003) et également celles des producteurs primaires (Dijkstra et al. 2013; Meier et al., 2009), mais aussi de simples considérations d'ordre spatial particulièrement pertinentes en ce qui concerne les bactéries et les champignons en raison de leurs différences de taille et de morphologie (Fontaine et al. 2011).

1.3.2. Stratèges *r* et stratèges *K*, bactéries et champignons

Fontaine et ses collègues proposèrent en 2003 une hypothèse qui fit date dans l'appréhension du PE. Celle-ci consiste en la division de la communauté microbienne à l'origine du processus en seulement deux groupes fonctionnels : les stratèges *r* et les stratèges *K* (Mac Arthur & Wilson 1967) (Fig. T4). Ce découpage rejoint d'autres classifications fonctionnelles telles que celle distinguant les copiotrophes des oligotrophes

(Fierer et al. 2007), ou encore les opportunistes des décomposeurs et des mineurs (Moorhead & Sinsabaugh 2006). Les stratégies r à croissance rapide sont considérés comme capables de dégrader des molécules simples (i.e. issues de la FOM). Les K quant à eux sont à croissance lente et capables de dégrader aussi les molécules complexes (i.e. issues de la SOM) pour lesquelles la compétition est moins forte. De plus, et conformément à ce qui a été écrit plus haut, cette hypothèse mécanistique de PE considère que la composition de la communauté microbienne est contrainte par l'équilibre entre la stoechiométrie des ressources nutritives et celle des cellules microbiennes qui la composent (Cleveland & Liptzin 2007; Allen & Gillooly 2009). De cet angle de vue, les auteurs ont pu élaborer deux mécanismes conduisant au priming effect : la décomposition stœchiométrique et le nutrient-mining.

La décomposition stœchiométrique (Fig. T4 mechanism 1) se produit en réponse à l'apport de FOM dans le sol, lorsque les enzymes extracellulaires produites par les stratégies r dégradent les molécules labiles contenues dans cette FOM pour lesquelles ils sont plus compétitifs. Mais ces mêmes enzymes peuvent être à même de décomposer une partie de la fraction polymérisée de la SOM. Cela a donc pour conséquence un PE réalisé sur la partie la plus accessible et probablement la plus jeune de la SOM (Derrien et al. 2014). Ce mécanisme fut nommé « décomposition stœchiométrique » en raison du fait que lors de cette phase, les stratégies r sont non seulement limités par l'énergie qui leur est accessible, mais également par la disponibilité en nutriments dans la solution du sol. Par conséquent, la teneur initiale en nutriments du sol est déterminante pour la mise en place de ce mécanisme, ainsi que pour son intensité et sa durée. Une fois ce stock de nutriments aisément accessibles épuisé, cette partie de la communauté microbienne cesse son activité et rentre en dormance.

Le nutrient-mining (Fig. T4 mechanism 2) se met en place parallèlement à la raréfaction de la fraction labile de la FOM utilisable par les stratégies r et le déclin de leur activité, ce qui permet aux stratégies K de prendre l'ascendant en minéralisant la part polymérisée de la FOM. Ceci leur apporte l'énergie nécessaire pour décomposer la SOM beaucoup plus récalcitrante, mais à la stoechiométrie plus avantageuse, et ainsi en récupérer les nutriments nécessaires à leur synthèse et leur activité, jusqu'alors limitants (Moorhead & Sinsabaugh 2006). Mais cette sur-minéralisation médiée par les K-stratégies est elle aussi dépendante de la stoechiométrie du milieu, en cela qu'elle représente une voie métabolique fort coûteuse

pour ces micro-organismes. Ainsi, quand les conditions ne sont pas limitantes, i.e. les nutriments sont disponibles dans la solution du sol ou des sources autres que la SOM, le PE peut s'en trouver grandement atténué, annulé, voire même inversé. Dans ce dernier cas, la communauté des microorganismes se détourne de la SOM au profit d'une source plus facile d'accès, au point de faire passer le taux de minéralisation de cette SOM en deçà de son niveau basal (pour le N, voir [Chen et al. 2014](#)). Cette sous-minéralisation de la SOM est également appelée *priming effect négatif*.

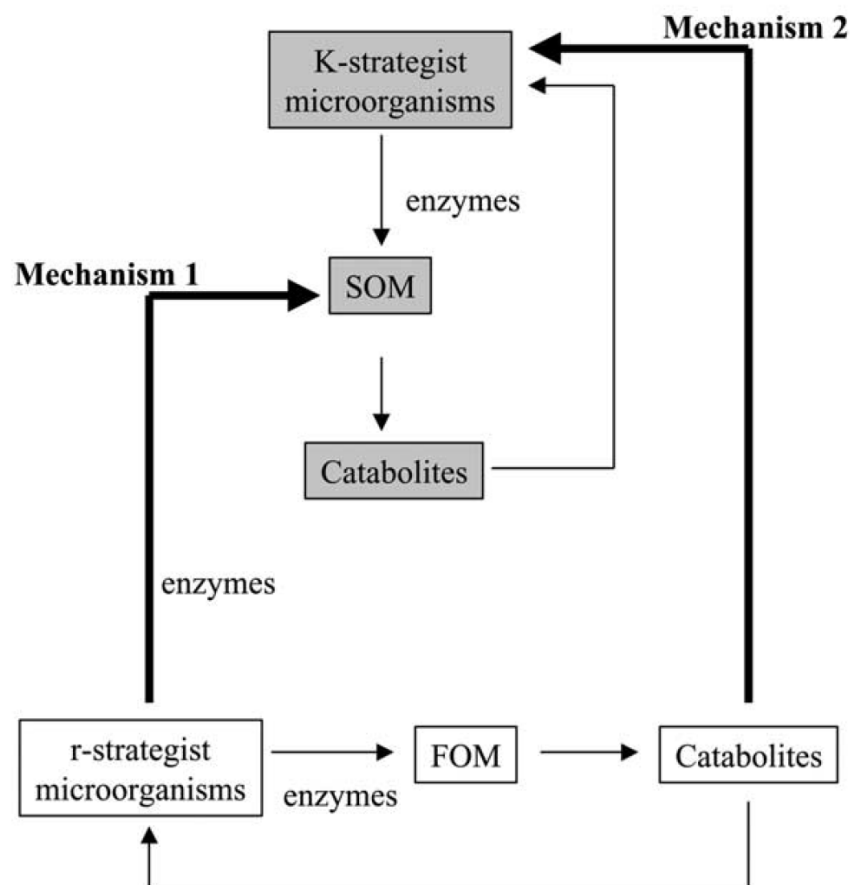


Fig. T4. Potential mechanisms leading to the priming effect. Mechanism 1: extracellular enzymes produced in order to decompose FOM by r-strategists may also be efficient for degrading SOM. Mechanism 2: a proportion of the FOM may be taken up by K-strategists according to the growth rate of r-strategists. This increases the K-strategist populations, the production of SOM decomposing enzymes and hence the rate of SOM decomposition. ([Fontaine et al. 2003](#))

D'autres publications, telle que celle de ([Blagodatskaya & Kuzyakov 2008](#)) décomposent quant à elles le PE en une succession plus fine d'étapes, alors plus nombreuses. D'après ces auteurs, l'établissement plus ou moins complet de cette succession serait très dépendant de

la quantité de C apportée relativement à la quantité de C contenue dans la biomasse microbienne estimée dans le sol. Ce découpage plus fin peut comprendre jusqu'à 5 phases (simple effet d'amorçage et/ou substitution du pool de C et/ou encore utilisation préférentielle du substrat; puis changement dans la composition de la communauté microbienne; et minéralisation de la SOM par co-métabolisme) se superposant à 2 autres phases (PE « apparent » et PE « réel » détaillé plus bas). Le sujet de cette thèse n'étant pas de faire le catalogue exhaustif des différentes hypothèses mécanistiques émises pour interpréter le PE, je me permets de me concentrer sur celles à la lumière desquelles j'ai tenté de m'appuyer dans mon travail.

1.3.3. Co-occurrence de la décomposition stœchiométrique et du nutriment mining ?

La décomposition stœchiométrique et le nutriment mining ne sont pas nécessairement des processus qui s'excluent l'un l'autre. Au contraire, ils peuvent se succéder et même se superposer temporellement ([Blagodatskaya & Kuzyakov 2008](#)). A ce sujet, un élégant design expérimental a permis à [Derrien](#) et ses collaborateurs ([2014](#)) de mettre en évidence le fait que la SOM minéralisée en début de cinétique de PE est plus jeune que celle minéralisée en fin. Pour se faire, 3 signatures isotopiques ($\delta^{13}\text{C}$) ont pu être suivies :

- celle du C organique du sol ancien (SOC) anciennement sous savane (signature de plante C4 $\approx -15\text{‰}$),
- celle du jeune C issue de la culture actuelle de plante C3 ($\approx -24\text{‰}$),
- et celle du glucose apporté à *ca.* -10‰ .

Les résultats semblent confirmer 2 hypothèses : 1) plus la SOM est ancienne, plus elle est récalcitrante, et 2) le mécanisme de décomposition stœchiométrique s'opérant en début de PE est le résultat d'une dégradation enzymatique de la partie la moins récalcitrante et la moins ancienne de la SOM, tel un effet collatéral engendré par des enzymes synthétisées en réponse à l'apport de molécules de la FOM.

A l'aide de suivi isotopique sur des extractions d'ADN et d'amplification via PCR quantitatives (DNA stable isotope probing + qPCR), une étude récente de [Lonardo](#) et collaborateurs remet en perspective le bien fondé de cette vision duale du PE. Les observations des auteurs laissent à penser que, plutôt que des organismes (ici des bactéries)

à stratégies r ou K, il s'agirait en fait plutôt de voies métaboliques plus ou moins coûteuses, engagées en fonction des substrats à disposition et du contexte stœchiométrique. Comme si toute la communauté microbienne était à la fois stratège r et K. Les auteurs concluent que les différences de PE engendrées par différents substrats ne peuvent pas être expliquées par la stimulation de différents groupes microbiens avec des capacités de dégradation la SOM différentes, mais par la stimulation de différents systèmes enzymatiques dans des taxons bactériens similaires (Lonardo et al. 2017).

Du fait de son design original, cette étude ouvre également le débat sur l'aspect spatial du PE.

1.3.4. Dimension spatiale du priming effect

Outre les aspects bioénergétiques qui sont impliqués dans le PE qui s'exerce sur les fractions moléculairement récalcitrantes de la SOM, s'ajoute une autre dimension, centrale, celle de l'accessibilité spatiale des molécules. Comme nous l'avons vu, les molécules de la SOM sur-minéralisées via le PE ne sont pas nécessairement toutes très récalcitrantes (cf. décomposition stœchiométrique) (Kleber et al. 2011). En effet, leur stabilité dans le sol peut également être le résultat d'une protection physique dans des agrégats et/ou d'une protection physico-chimique par sorption sur des argiles (Chenu & Plante 2006) ou des biochars (Box. 1, page 169) Ce constat a généré des débats toujours en cours pour mieux définir les molécules qui font l'objet du PE (Schmidt et al. 2011). La notion de récalcitrance moléculaire initialement utilisée n'est en fait qu'une partie du concept de « stabilité » ou de « persistance » des molécules primées. A cela s'ajoute désormais une notion de stabilité physique des molécules de la SOM.

Du fait de l'incorporation de FOM dans le sol, le sol subit un certain nombre de modifications physiques. En particulier, la surface d'échange entre la FOM et les autres constituants vivants et non vivants peut être réduite ou au contraire accrue. De fait, la mise en contact de molécules jusqu'alors isolées avec des communautés microbiennes tout aussi isolées est alors rendue possible. Par ailleurs, grâce à l'apport énergétique de la FOM, le système hyphal mycélien peut s'étendre et permettre aux champignons une exploration bien plus efficace du milieu que dans le cas des communautés bactériennes, et donc une

meilleure accessibilité aux ressources du sol. C'est une des raisons pour lesquelles il est probable que les champignons soient les acteurs principaux du priming effect (Fontaine et al. 2011).

A ce sujet, dans cette même étude de Lonardo et al. (2017), les auteurs ont voulu tester la réponse du PE à 3 molécules représentatives d'un gradient labilité-récalcitrance : glucose, cellobiose et acide vanillique. Dans leur expérience, les apports ont été normalisés soit par gramme de carbone de la SOM, soit par rapport à l'énergie contenue dans ces molécules :

Amount of substrates added to the soil.

	mg of C-substrate/g soil		
	Glucose	Cellobiose	Vanillic Acid
Same amount of carbon	0.11	0.11	0.11
Same amount of energy	0.13	0.11	0.84

Tab. T1 Tiré de (Lonardo et al. 2017)

Le résultat est alors très intéressant :

- à C équivalent, les apports présentent des réponses de PE classiques liées à leur degré de labilité-récalcitrance : glucose > cellobiose > acide vanillique
- mais à énergie équivalente, c'est l'apport de la molécule récalcitrante qui induit le plus PE le plus fort, jusqu'à 5.5 fois supérieur à celui engendré par les deux autres molécules.

Les auteurs concluent que l'effet sur le PE de la structure chimique des composés ajoutés dépasse de beaucoup le simple effet de leur contenu énergétique (Lonardo et al. 2017). Pourtant, il me semble que leur résultat contient un fort facteur confondant. En dehors de leur méthode de détermination du contenu énergétique de leurs molécules qui peut être elle aussi sujette à débat, une fois normalisée sur son contenu énergétique, la molécule récalcitrante (vanillic acid) a été apportée en quantité de C ca. 8 fois supérieure aux deux autres substrats (glucose et cellobiose). En conséquence, il y a clairement un effet confondant entre les dimensions énergétique, quantitatives (Guenet et al. 2010) et spatiales des apports, inextricables en l'état. Etant donné le caractère aussi intrigant que contre-intuitif de la conclusion de cette étude, j'aurais tendance à privilégier l'hypothèse spatiale

(telle que développée plus haut) comme facteur explicatif principal des résultats expérimentaux obtenus, car c'est la moins coûteuse en hypothèses (*cf.* principe de parcimonie), dans l'attente de nouvelles recherches sur cette question.

1.3.5. Priming effect positif vs. négatif

De cette vue d'ensemble sur le priming effect, on peut affirmer que le PE est un processus multifactoriel, hétérogène dans le temps et dans l'espace et non-unifié sur le plan conceptuel. En effet, au fur et à mesure de l'accumulation des études sur le sujet, des mécanismes sous-jacents variés ont été suggérés et/ou mis en évidence, des acteurs différents ont été identifiés (bactéries vs. champignon), et le signe même du processus s'est vu élargi, pouvant désormais être positif, nul ou même négatif (Kuzyakov, Friedelb, et al. 2000). Le PE négatif serait une diminution de la vitesse de minéralisation de la SOM, conséquence d'un « shift » des communautés microbiennes décomposant jusqu'alors la SOM, et se concentrant désormais sur la FOM apportée et plus labile. Ainsi la définition du PE n'est plus une « stimulation » mais une simple « modification » du taux de minéralisation de la SOM via l'apport d'un substrat facilement décomposable.

C'est de cette forte diversité mécanistique que sont nées nombre de contradictions dans les études menées, aussi bien pour celles réalisées en milieu terrestre qu'aquatique – et il me semble que le terme de *priming effect* recouvre désormais plutôt le statut d'un concept que celui d'un processus. Eu égard à cette situation, des auteurs ont proposé une terminologie différente pour tenter de répondre à ce désordre conceptuel et ont proposé, celle « d'effet interactif » (Bengtsson et al. 2018). Cette dénomination a d'ailleurs déjà été acceptée par d'autres auteurs qui affirment que le fait de désigner des mécanismes distincts par un unique terme induit les chercheurs en erreur, et que c'est de l'équilibre entre ces mécanismes distincts que se joue le signe et l'intensité de cet « effet interactif », alias « priming-effect » (Sanchez et al. en cours de publication).

Bien qu'en accord avec ce mouvement de remise en question de la définition du PE, par souci de simplicité, je continuerai ce travail en conservant le terme classiquement usité de PE.

1.3.6. Dimension évolutive du priming effect

Comme illustré précédemment, lorsqu'il est fait mention du PE dans le contexte actuel des changements globaux, c'est le plus souvent en termes négatifs. En effet, il est couramment admis qu'un enjeu majeur par rapport au changement climatique est la séquestration du carbone dans les sols. Or, le PE contrarie cet objectif en induisant une émission additionnelle de CO₂ vers l'atmosphère, conduisant à un réchauffement global par effet de serre additionnel. Cependant, pour bien comprendre la signification du PE, il convient de se replacer dans un contexte naturel et évolutif. En dehors de l'incidence anthropique directe comme indirecte, le PE s'opère en conditions « naturelles » en cohérence avec la satisfaction des besoins en ressources nutritives de différents types d'organismes, satisfaction qui est souvent le résultat d'interactions entre ces divers types d'organismes.

Ainsi, en conditions naturelles, bien qu'ils soient les acteurs directs du PE, les microorganismes ne sont pas les seuls contributeurs au PE, loin s'en faut (Clarholm, 1985a, Griffiths, 1994). Les interactions entre les micro-organismes du sol, la faune du sol et les plantes sont l'une des clés pour appréhender le « pourquoi » du processus. Ainsi, des substances libérées par la faune du sol, telles que les mucigels produits par les vers de terre sont connues pour induire rapidement du PE en stimulant les communautés microbiennes plus ou moins dormantes de la SOM (Lavelle et Gilot, 1994, Lavelle et al., 1995 ; Kuzyakov, Friedelb et al., 2000).

Par ailleurs, une autre interaction très étudiée est celle qui s'instaure entre les microorganismes du sol et les producteurs primaires via leur système racinaire. L'émergence de ce « priming effect rhizosphérique » (RPE) peut se présenter comme suit : lorsque les producteurs primaires se trouvent dans un contexte stœchiométrique défavorable, les plantes ont la possibilité d'allouer une part importante de leur énergie à la synthèse de rhizodépôts (Nguyen 2003), en particulier d'exsudats racinaires (Fig. T5). Entre 5 et 60% de tout le C fixé via la photosynthèse peut être ainsi transféré à la rhizosphère (Marschner, 1995, Keiluweit et al. 2015). Ces exsudats sont constitués d'un ensemble de molécules simples (Walker et al. 2003), et offrent aux communautés microbiennes du sol l'énergie

nécessaire pour opérer un PE, et ainsi récupérer et remettre en circulation les éléments contenus dans la SOM (N, P, K, etc.), jusqu'alors limitants dans la solution du sol.

C'est ainsi que certains auteurs expliquent la caractéristique des plantes (stratégies K en général) qui allouent un large part de leur biomasse à l'établissement d'un système racinaire profond. D'un point de vue évolutif, cet investissement dans les racines profondes présente l'avantage d'extraire la plante de la zone de surface où la compétition est élevée avec les autres plantes, et de gagner des zones moins explorées et surtout moins exploitées. La disponibilité des nutriments est plus faible dans les couches profondes du sol que dans les couches superficielles (McKinley et al. 2009).

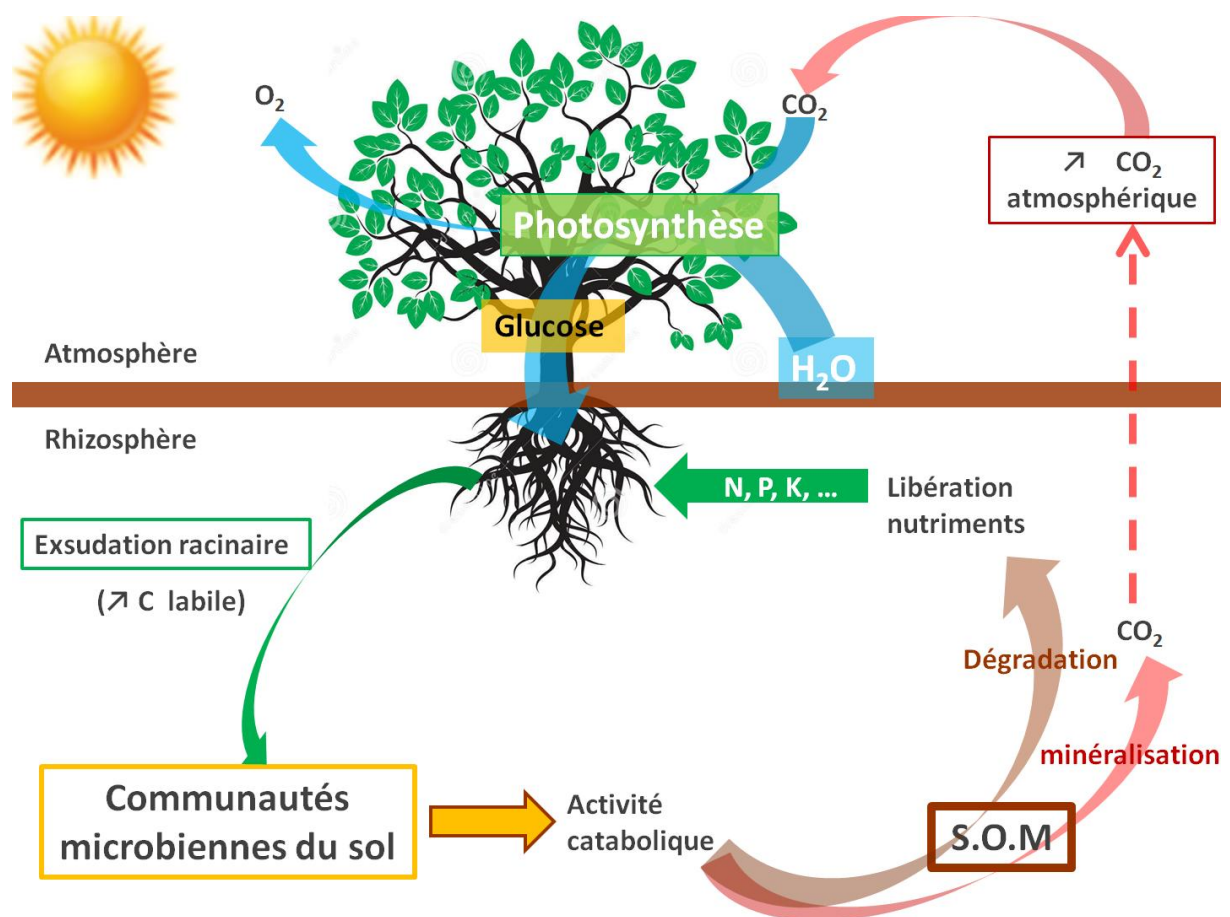


Fig. T5 Schéma du mécanisme de priming effect rhizosphérique (RPE) ainsi que du rétrocontrôle positif entre RPE et teneur en CO₂ atmosphérique.

Une contradiction apparaît : moins de compétition, mais moins de ressources. Un compromis évolutif possible passe par la mise en place d'un RPE, coûteux en énergie pour ces plantes, mais très efficace pour l'accès à des nutriments qui sont très concentrés dans la

matière organique profonde – par exemple, les C:N les plus bas sont mesurés dans les niveaux profonds des sols (e.g. [Feng et al. 2017](#); [Jiang et al. 2017](#); [Kramer et al. 2017](#)). Ce scénario a été crédibilisé par la mise en évidence que cette interaction plante-microorganismes était à même de remettre en circulation des nutriments contenus dans une SOM dont l'âge peut aller jusqu'à 15000 ans ([Fontaine et al. 2007](#); [Shahzad et al. 2018](#)).

Comme on pu le suggérer les mêmes auteurs en 2015 ([Shahzad et al.](#)), il apparait alors que tout facteur augmentant la productivité primaire aurait pour conséquence indirecte d'augmenter la quantité d'exsudats racinaires et par là-même le RPE, reconnu pour être un puissant accélérateur de la minéralisation de la SOM en CO₂. Parmi ces facteurs, on peut compter l'augmentation du CO₂ atmosphérique résultant en majeure partie de l'activité anthropique, et induisant une rétroaction positive, i.e. une amplification des émissions de CO₂ par le RPE et le déstockage du C contenu dans la SOM ainsi minéralisée ([Shahzad et al. 2015](#); [Heimann & Reichstein 2008](#)) (Fig. T5).

1.4. Biais et limites méthodologiques de l'étude du priming effect en milieu terrestre

Les expérimentations dans lesquelles le PE est étudié se trouvent confrontées à des difficultés méthodologiques qui rendent parfois délicates l'interprétation fine des données, tant pour quantifier le processus que pour en comprendre les mécanismes.

1.4.1. Priming effect apparent

Un des biais majeur dans l'interprétation expérimentale du PE est un phénomène largement documenté, celui du PE « apparent ». Celui-ci mène à une confusion dans l'interprétation des flux de CO₂, et donc, dans le calcul du PE « réel » qu'on lui oppose ([Blagodatskaya & Kuzyakov 2008](#)), autrement appelés PE « faux vs. vrai » chez d'autres auteurs ([Fontaine et al. 2011](#)). Lorsqu'il a lieu, le faux PE est théorisé comme suit. Les décomposeurs du sol présentent la même signature isotopique que leur milieu : celle du sol. Lorsqu'ils reçoivent une source d'énergie carbonée aisément métabolisable, cela leur permet de sortir de leur stade de quiescence et une partie du carbone va en fait servir à assurer le turnover de leurs cellules, notamment le renouvellement de leurs métabolites

(hypothèse des « trigger molecules » [Nobili et al. 2001](#)). L'incorporation de ce C « nouveau » dans leur biomasse s'accompagne alors de la métabolisation, et *in fine* de la minéralisation du C initialement contenu dans leur biomasse, qui présente le même $\delta^{13}\text{C}$ que le sol. Ce flux de CO_2 sera donc interprété comme le résultat du PE alors que son origine n'est pas le C de la SOM, mais le turnover microbien, tel qu'illustré dans la [figure T6](#) (tirée de l'article de [Mason-jones et al. 2018](#)). L'existence de ce PE apparent peut être révélée via des analyses complémentaires telles que la mesure du C microbien, mais cela est rarement ([Wu et al. 1993](#); [Fontaine et al. 2004](#)).

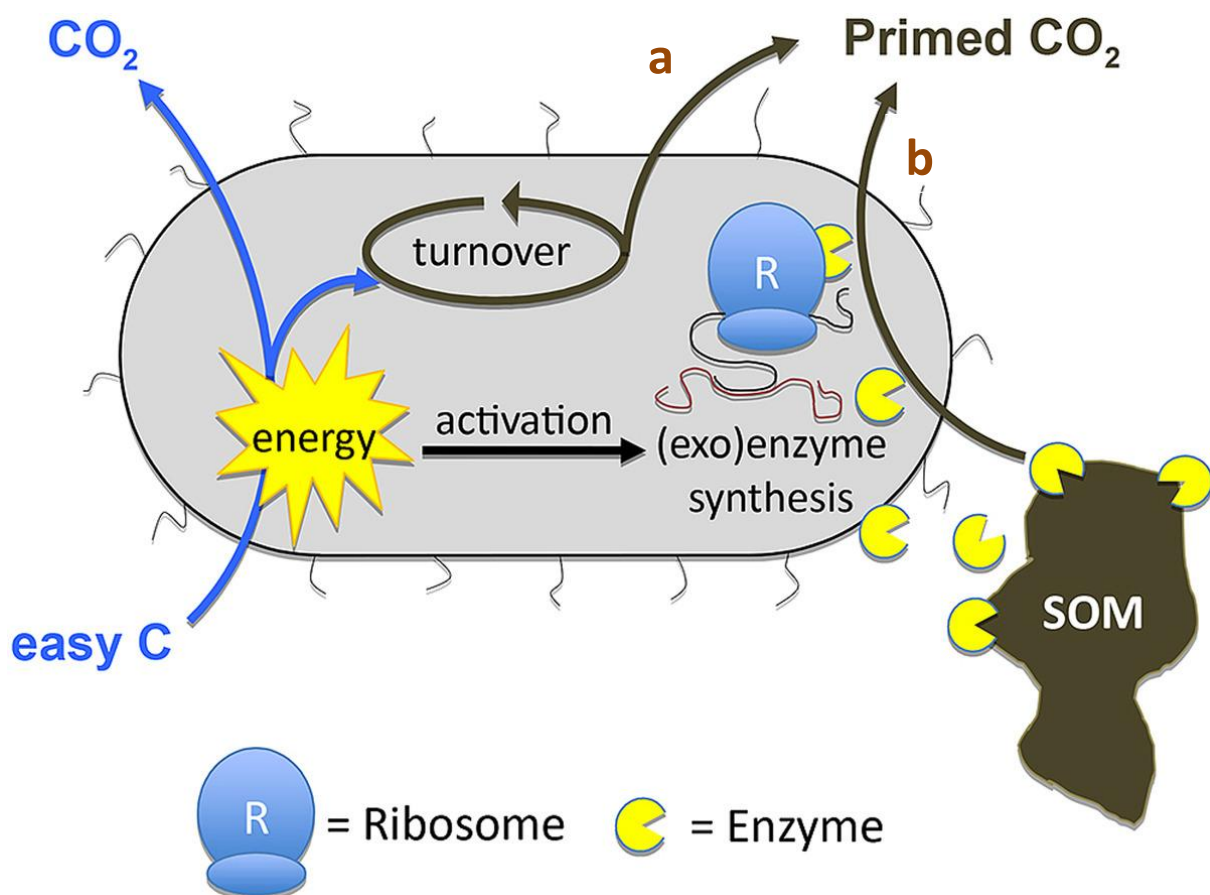


Fig. T6. Diagramme conceptuel du PE induit par le C. La voie métabolique illustrée par la flèche « a » représente le PE apparent, la « b » représente le PE réel. Tiré de [Mason-Jones et al. 2018](#).

L'occurrence de ce PE apparent semble quant à elle dépendre :

- 1) de la quantité de C apporté vis-à-vis de la quantité de C contenu dans la biomasse microbienne ([Blagodatskaya & Kuzyakov 2008](#)). Avec un apport en C inférieur ou équivalent à la quantité de C contenue dans la biomasse microbienne ($C_{\text{apport}} \leq C_{\text{mic}}$), le

PE pourrait n'être qu'apparent puisque le C apporté serait susceptible d'être utilisé entièrement pour le renouvellement du C microbien. Ceci est aussi fonction du point suivant :

2) de la forme sous laquelle le C est apporté (molécules simples, complexes, résidus végétaux, stoechiométrie de l'apport) (Wu et al., 1993; Dimassi et al. 2014).

Le PE apparent peut s'opérer dans des proportions largement significatives, et se produire pendant quelques heures à quelques jours suite à l'apport de FOM, soit un laps de temps bien plus réduit que celui du PE réel (Blagodatskaya & Kuzyakov 2008).

1.4.2. Equivalence entre minéralisation et décomposition

Une autre limite de la plupart des conditions expérimentales est l'hypothèse implicite selon laquelle la minéralisation mesurée reflète, linéairement, l'activité microbienne de dégradation de la matière organique.

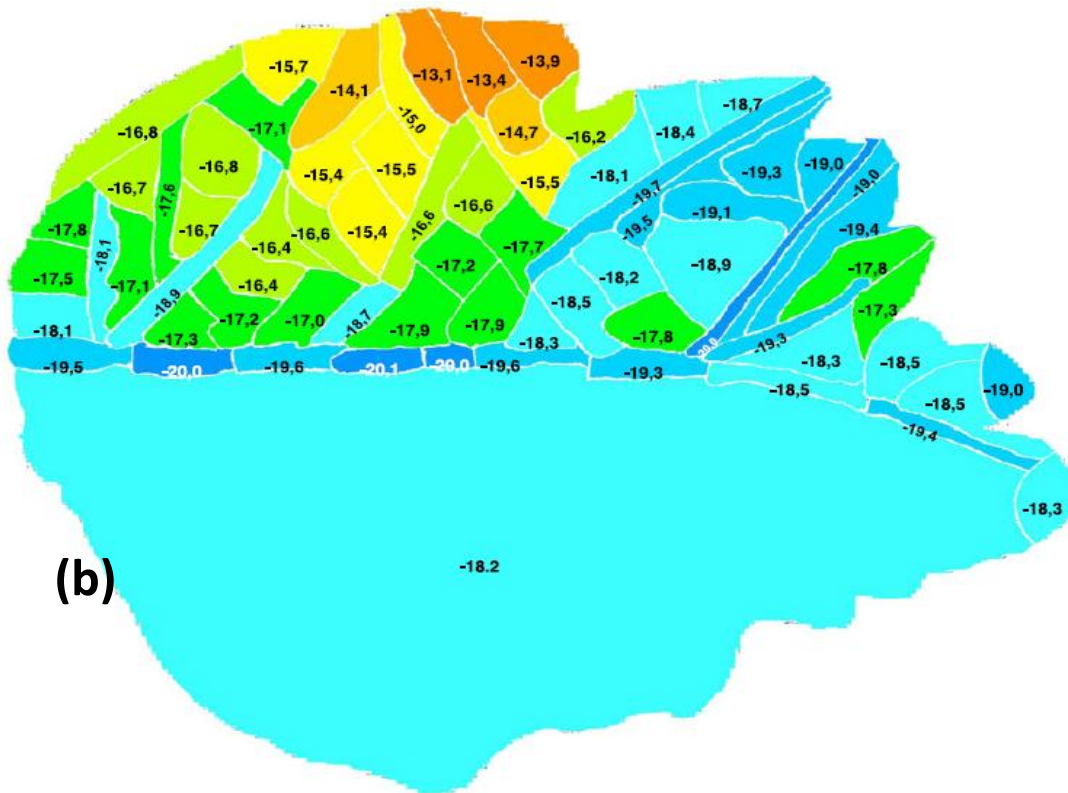
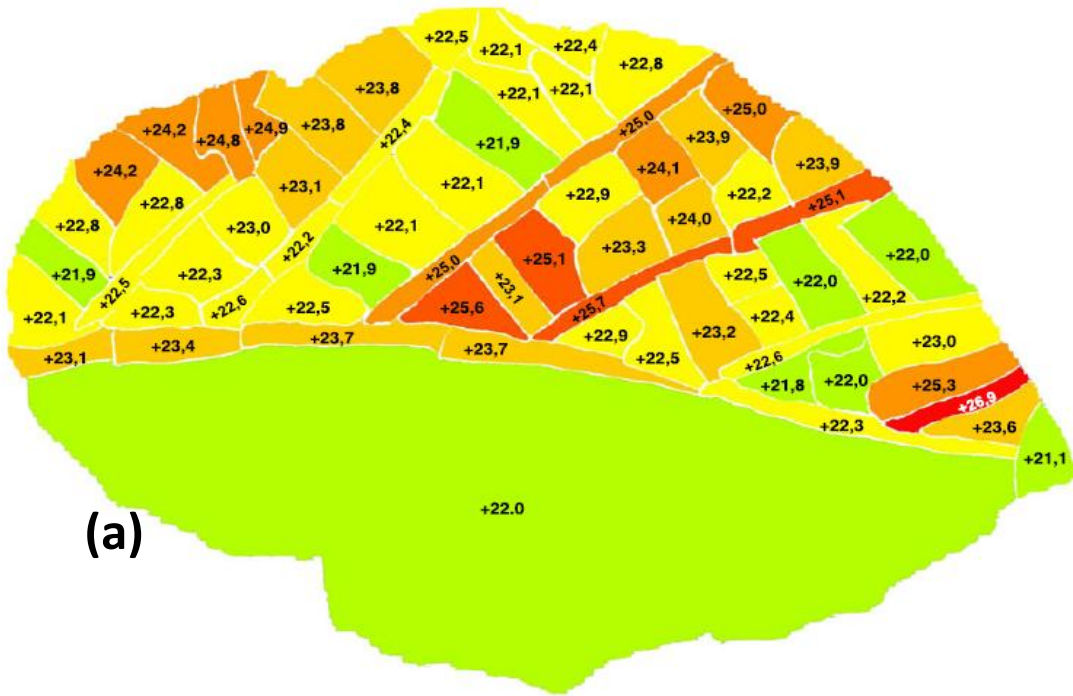
Toutefois, une part non négligeable du C, en fonction de différents facteurs, peut-être préférentiellement allouée à la biomasse microbienne des bactéries et des champignons (i.e. division cellulaire), plutôt qu'au métabolisme énergétique (i.e. respiration), faussant ainsi la lecture des résultats. Par exemple, une diminution de minéralisation totale et/ou de PE entre 2 traitements peut alors résulter de la dégradation de quantités égales de matière organique dans les deux cas, mais d'une minéralisation inférieure dans le traitement mesuré comme étant le plus faible du fait d'une plus grande allocation de l'énergie allouée à la croissance de la biomasse.

A cela peut s'ajouter l'effet du pH de la solution du sol qui, outre son impact direct sur l'intensité de l'activité enzymatique microbienne (Hung & Trappe 1983; Bottner et al. 1998; Coûteaux et al. 2001; Walse et al. 1998), une part du CO₂ émis peut être fixé dans la solution du sol jusqu'à ce que l'équilibre acido-basique soit obtenu entre dissolution et dissociation du CO₂ (Blagodatskaya & Kuzyakov 2008). Cet équilibre dépend également de la température (Leifeld 2005) et induit généralement un délai dans la lecture du PE (et de la minéralisation de la OM présente dans le sol de façon plus générale) ainsi qu'à sa sous-estimation.

1.4.3. Hétérogénéité des signatures isotopiques

Dans la plupart des études, la détermination expérimentale du PE est réalisée à l'aide des différences de signatures isotopiques entre les différents compartiments suivis. De ce fait, des difficultés de lecture peuvent apparaître si ces différences sont trop ténues en fonction de plusieurs facteurs, tels que :

- la résolution des analyseurs utilisés : il faut que l'effet observé dépasse le bruit de fond de l'appareil pour être détectable.
- la qualité des analyseurs utilisés : il faut que l'effet observé dépasse suffisamment le bruit de fond de l'appareil pour que la variabilité analytique imputable à l'appareil soit négligeable.
- la variabilité au sein des échantillons entre les réplicats expérimentaux,
- l'hétérogénéité de signature isotopique au sein des compartiments étudiés pour un même réplikat. Par exemple, au sein des tissus végétaux, une hétérogénéité naturelle et une hétérogénéité en conditions de marquage artificiel a été mesurée et même cartographiée (Nguyen Tu et al. 2013) (Fig. T7). Ou encore, au sein du sol, la présence de sous-compartiments aux signatures isotopiques différentes, tel que, entre autres, les carbonates (McCrea 1950; Cerling & Quade 1984; Midwood & Boutton 1998) sont un problème récurrent dans ce genre de contexte.
- le possible fractionnement isotopique microbien le long des voies métaboliques hétérotrophes (Blair et al. 1985; Macko et al. 1987; Summons et al. 1994; Mary et al. 1992). Dans notre cas, on pourrait imaginer que la minéralisation du C pourrait s'accompagner d'un fractionnement isotopique pendant la décomposition, de sorte que la composition isotopique du CO₂ dégagé soit sensiblement différente de celle du substrat d'origine (Mary et al. 1992).



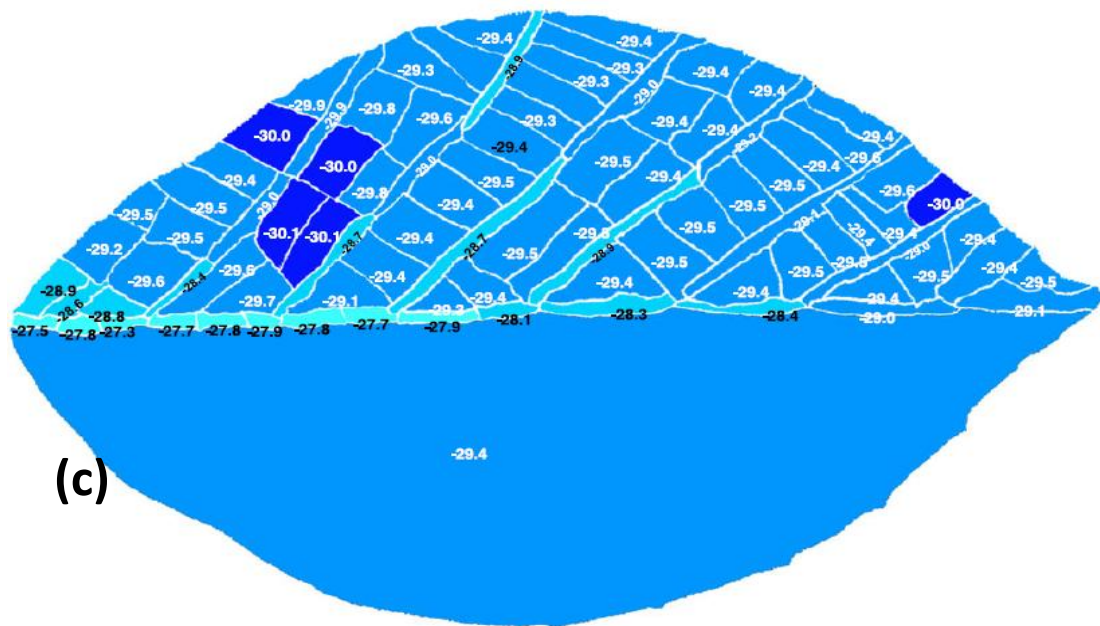


Fig. T7. Variabilité isotopique dans les feuilles de hêtre (valeurs $\delta^{13}\text{C}$ en ‰): (a) feuille tardive marquée; (b) des feuilles précoces marquées; (c) feuille naturelle. Les valeurs notées sur les demi-feuilles inférieures ont été obtenues après broyage et homogénéisation. (issu de [Nguyen Tu et al. 2013](#))

1.5. Théories du priming effect en milieu aquatique

Après avoir été décrit par [Löhnis](#) en 1926, ce concept, né en sciences du sol, fut pour la première fois suggéré pour les milieux aquatiques par [De Haan](#) en 1977. Ceci pour expliquer l'augmentation de la croissance bactérienne et de la décomposition des acides fulviques, subséquentement à l'addition d'acide benzoïque dans un lac. Il fallut pourtant attendre 2010 et la publication de [Guenet et al.](#) pour que le PE soit placé sur le devant de la scène, en encourageant son étude et sa prise en compte dans les milieux aquatiques. S'en est alors suivie une augmentation importante d'études sur le sujet. Ce regain d'intérêt est justifié puisque dans les milieux aquatiques aussi se trouvent réunies les conditions clés pour l'occurrence du PE : présence simultanée de matières organiques labiles et récalcitrantes ([Fig 7](#)) en quantités importantes. Cela a permis de démontrer que le PE pouvait se produire dans une large gamme d'écosystèmes aquatiques, continentaux comme marins ([Bianchi 2011](#); [Lane et al. 2013](#); [Carlson et al. 2002](#); [Farjalla et al. 2009](#); [Danger et al. 2016](#); [Bianchi et al. 2015](#); [Shimp & Pfaender 1985](#); [Nugteren et al. 2009](#); [De Haan 1977](#)) et, de surcroît, avec

une intensité pouvant être du même ordre de grandeur que celle mesurée dans les écosystèmes terrestres (Guenet et al. 2010).

Néanmoins, loin d'aboutir aisément à un consensus, certaines études concluent à l'absence de PE, ou au contraire à son occurrence, mais aussi bien positive que négative (Guenet et al. 2014; Franke et al. 2013; Bengtsson et al. 2014; Kellerman et al. 2015; Danger et al. 2016). De même que pour le PE terrestre, les facteurs expliquant les grands écarts de résultats entre les études ne sont toujours pas démêlés, mais des récentes reviews (Bengtsson et al. 2018; Sanches et al., en cours de publication) permettent tout de même de dégager des tendances exploitables.

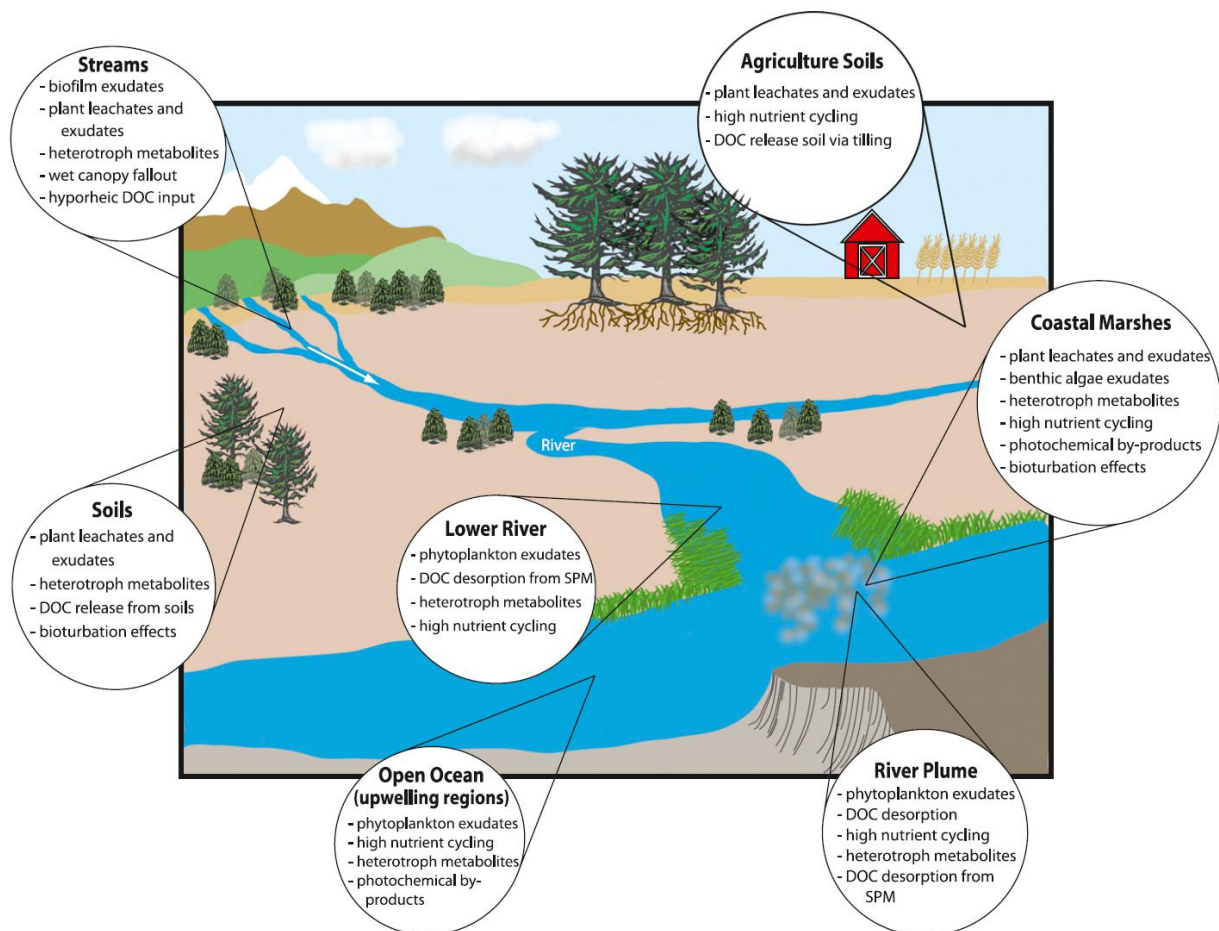


Fig. T8. Sources possibles de substrats pouvant faire l'objet d'un priming effect en milieu aquatique (Bianchi 2011)

Plus qu'en milieu strictement aquatique, le PE apparait comme un point clé de la dynamique de la OM, particulièrement au niveau des écotones (i.e. zone de transition écologique entre deux écosystèmes), et plus précisément des interfaces échohydrologiques

(Krause et al. 2017). Dans ces zones, littorales, estuariennes et milieux peu profonds, s'opère une rencontre entre des flux de OM allochtone stabilisée en provenance de l'érosion des sols (Bianchi 2011) et des flux d'OM autochtone plus labile (Guenet et al. 2010) (Fig T8). Cette dernière est par exemple relâchée par les producteurs primaires, tel que le phytoplancton, sous forme de monosaccharides, de polysaccharides et d'acides aminés et peut engendrer un priming effect, particulièrement en conditions oligotrophes (i.e particulièrement pauvre en éléments nutritifs.) (Mccallister & Del Giorgio 2012; Guenet et al. 2010, 2013, 2014). Une étude récente a d'ailleurs montrée que le carbone organique relâché dans le milieu par le périphyton (= mélange complexe d'algues, de cyanobactéries, de microbes hétérotrophes et de débris) stimulait les microorganismes décomposeurs (i.e. minéralisateurs) de débris végétaux submergés (Kuehn et al. 2014) .

1.6. Difficultés méthodologiques d'étude du priming effect en milieu aquatique

L'importance du compartiment des producteurs primaires apparaît donc comme essentielle dans la mise en place du PE, cependant, en raison de difficultés méthodologiques, il est important de noter que presque toutes les recherches menées sur le PE aquatique ont été faites jusqu'ici dans des conditions très simplifiées, sans la présence de populations phytoplanctoniques vivantes. En plus des difficultés discutées pour le PE terrestre et pouvant s'appliquer en milieu aquatique, celles-ci s'expliquent notamment par la difficulté à séparer les flux, qu'ils soient quantitatifs ou qualitatifs (isotopiques).

En effet, à quelques détails près, il suffit en milieu terrestres de mesurer les flux de CO₂ en provenance des sols et se retrouvant dans le compartiment atmosphérique. Mais en milieu aquatique, l'eau constitue un compartiment supplémentaire dans lequel les flux des éléments (dissouts) sont sujets à passer plusieurs fois entre les compartiments des décomposeurs et des producteurs primaires. Chaque compartiment réalisant un fractionnement isotopique qui lui est propre, ces flux complexes brouillent ainsi les signaux et donc leur interprétation. De ce fait, jusqu'ici dans les études expérimentales de PE

aquatique, l'activité du compartiment des producteurs primaires n'était que mimé grossièrement en apportant des composés labiles (e.g. du glucose, [Guenet et al. 2014](#)) ou, au mieux, en apportant des résidus de phytoplanctons mort et lyophilisé (e.g. l'étude de [Trevathan-tackett et al. 2018](#)).

1.7. Priming effect et changement globaux

Dans cette partie non exhaustive, je me concentrerai uniquement sur les facteurs qu'il m'a été possible de manipuler lors des mes expérimentations de thèse.

1.7.1. Effet de la température

Aussi bien en milieu terrestre qu'aquatique, la température induit de très nombreux effets sur la biosphère : des effets directs sur le métabolisme des organismes soumis aux variations de températures, et des effets indirects via l'incidence de la température sur les équilibres de dissolution-évaporation des gaz tels que l'O₂, le CH₄, CO₂, l'équilibre vapeur-liquide pour l'H₂O... et de nombreuses interactions et rétroactions entre tous ces effets ([Bates et al. 2008, IPCC Technical Paper VI](#)).

La température est connue pour être l'un des principaux facteurs déterminant la vitesse du processus de décomposition ([Curiel Yuste et al. 2007; Gregorich et al. 2016](#)). Ce lien a été formalisé par Arrhenius ([Arrhenius, 1889](#)) qui, au moyen de son équation, montre que la température de décomposition (via réactions enzymatiques) augmente avec l'augmentation de la complexité des composés (i.e. récalcitrance biochimique) induisant des énergies d'activation supérieures à celles des molécules plus simples. ([Lützow & Kögel-knabner 2009; Conant et al. 2011; Hartley & Ineson 2008](#)) (Fig T9). Or, l'importante stabilité de la SOM est due, au moins en partie (cf. [Box. 1, page 169](#)), à un degré élevé de récalcitrance. Le PE étant un processus par lequel la minéralisation de la SOM se trouve amplifiée, il peut paraître logique de s'attendre à ce qu'il soit lui aussi stimulé par une augmentation de la température de l'ordre de celle prédite par les scénari de réchauffement climatique ([IPCC 2014](#)). De plus, dans la perspective d'un bilan entre sources et puits de C, il a été plusieurs fois montré que la sensibilité à la température des taux de décomposition est généralement supérieure à celle des taux de productivité primaire nette ([Lloyd & Taylor 1994; Schimel et](#)

al. 1994; Kirschbaum 2000) – déséquilibre qui laisse supputer de lourdes conséquences environnementales.

➤ En milieu terrestre

Pourtant cette prédiction de lien positif entre température et vitesse de minéralisation est loin d'être observée systématiquement dans les expérimentations de PE terrestre. Lorsque les systèmes expérimentaux contiennent un compartiment de producteurs primaires en plus de celui des décomposeurs hétérotrophes du sol, l'effet de l'augmentation de la température est assez systématiquement observé, notamment à travers son effet stimulant sur la productivité primaire (Kirschbaum 2000). Par exemple, dans une étude de Zhu & Cheng de 2011, une augmentation de 5°C a suffi à multiplier par 3 l'intensité du RPE. Mais lorsque cet effet est étudié uniquement sur le PE lié à l'activité des microorganismes, sans la présence de plantes, on observe une importante disparité dans les résultats. Ainsi, suite à une augmentation de température, des résultats de PE positif (Li et al. 2017; Thiessen et al. 2013; Yanni et al. 2017) mais aussi négatif (Froseth & Bleken 2015; Yanni et al. 2017) ont été rapportés, alors que d'autres études n'ont détecté aucune différence significative (Ghee et al. 2013), y compris dans le cadre d'expérimentation à long-terme (Vestergård et al. 2016).

Cette apparente contradiction résulte probablement de la grande diversité des facteurs de contrôle de l'intensité et du signe du PE. De ce fait, chaque étude ne manipulant pas les mêmes paramètres (type et qualité de OM apportée, stoechiométrie, humidité du sol, pH, biomasse microbienne, type de sol... etc), il est possible que ces divergences soient contextuelles, du fait de facteurs confondants et/ou d'interactions entre un ou plusieurs facteurs et la température. Ceci étant, cette grande variabilité dans les résultats suggère que la température peut certes être un des facteurs explicatifs de la variabilité du PE, mais pas au point de prendre le pas sur les autres caractéristiques biotiques et abiotiques des sols.

Par ailleurs, il faut compter avec les conséquences indirectes engendrées par une variation de la température, telle que les variations de l'humidité du sol. En effet, au cours d'expérimentations en laboratoire, ces facteurs sont généralement contrôlés et isolés afin, justement, de faire la part des choses et d'éviter ainsi au maximum l'écueil des facteurs

confondants, point qui peut faire l'objet de critique par certains auteurs (e.g. [Carpenter 1996](#)). Mais ceci ne doit pas faire oublier, lors des interprétations de résultats. C'est pourtant une limite inhérente aux expérimentations en microcosmes qui présentent un fort niveau de contrôle des paramètres et donc, comme les autres échelles d'unités expérimentales, leur lot d'avantages et de limites ([Benton et al. 2007](#); [Lee & Brown 2011](#)). C'est ainsi que les résultats obtenus à différentes échelles expérimentales, i.e. en micro-, méso-, macrocosme ou in situ en milieu naturel pourront alors être différents ([Fig. T9](#))

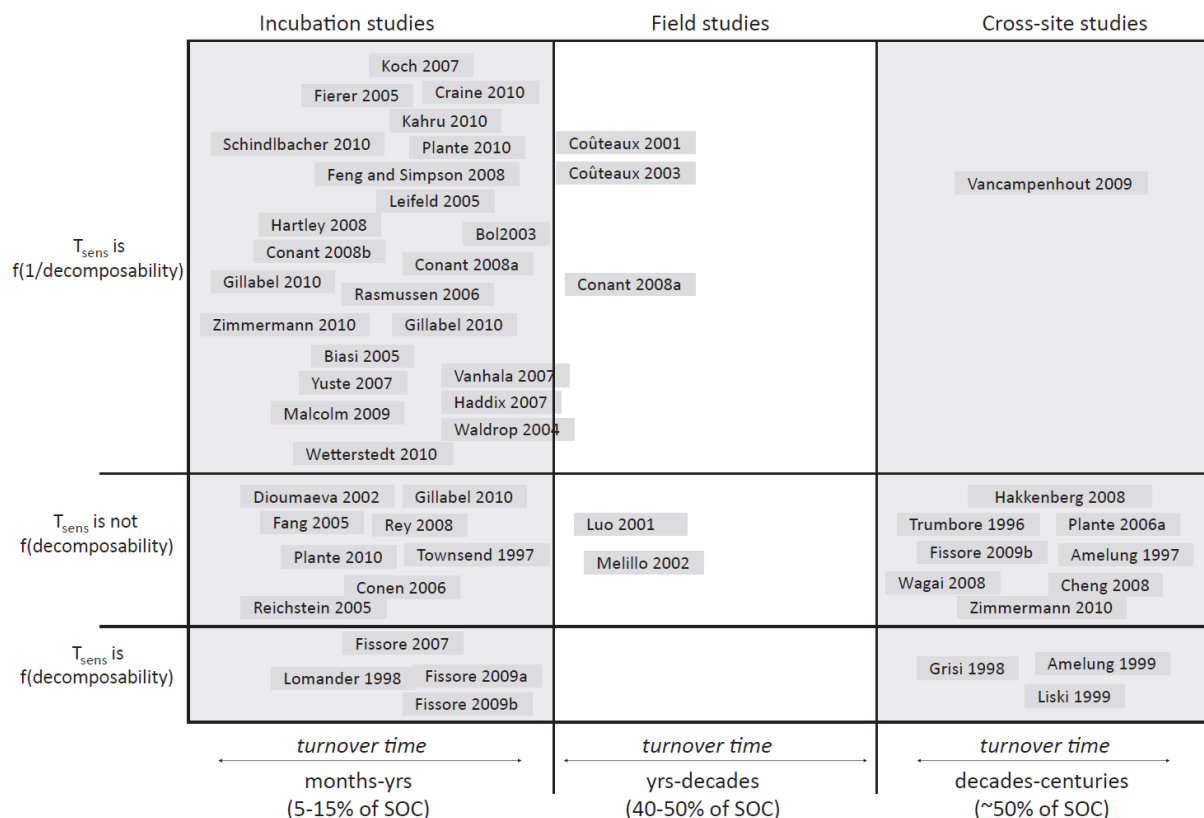


Fig. T9 La majorité des études d'incubation ont montré que les taux de décomposition des matières organiques lentement décomposables sont plus sensibles à la température ($T_{sens}=f(1/décomposabilité)$), conformément aux prédictions de la thermodynamique de base. Cependant, comme le montre l'axe des abscisses, les études d'incubation se limitent nécessairement à décrire les réponses des 5 à 15% les plus facilement décomposables de la SOM. Inversement, les études menées sur des systèmes expérimentaux de taille supérieure et sur du plus long-terme aboutissent à des tendances différentes : ici, elles indiquent que la décomposition des composés de la SOM les plus lentement décomposables est relativement insensible à la température. Tirée de ([Conant et al. 2011](#))

➤ En milieu aquatique

Des articles récents ([Gudasz et al. 2010](#); [Marotta et al. 2014](#)) suggèrent que le réchauffement climatique augmentera la minéralisation de la MO des sédiments sous toutes

les latitudes. Selon une autre étude (Yvon-durocher et al. 2015), ce réchauffement modifiera la composition stœchiométrique du phytoplancton *via* des mécanismes physiologiques dépendants de la température. Ceci devrait augmenter l'excrétion de MO labile par le phytoplancton (Leflaive et al. 2008). L'augmentation de la teneur en CO₂ (non testée ici) devrait aussi augmenter le PE en favorisant des ratios carbone/nutriments élevés et une production importante de composés labiles et de TEP (« transparent exopolymer particles » (Zetsche & Ploug 2015)) par les producteurs primaires. De plus, quel que soit le scénario d'émission de CO₂ envisagé, l'augmentation de température elle-même est susceptible de stimuler le taux d'activité des microorganismes d'une manière générale. (Anav et al. 2013). Ceci a amené certains auteurs à proposer l'hypothèse d'une augmentation du PE, et donc de la minéralisation de la MO considérée comme réfractaire, en réponse aux changements global (Guenet 2010). Huit années plus tard, un important travail de review (Sanches et al., en cours de publication) a mis en évidence que le PE aquatique semble bien être en partie contrôlé par la température qui augmenterait l'intensité du processus. Toutefois, cet accroissement de la vitesse du PE n'a été observé expérimentalement que pour des températures supérieures à 20°C (Fig. T10). La réponse observée n'a pas été pas linéaire : on constate un effet relativement faible sur l'intensité du PE au-dessous de 20°C, puis une augmentation exponentielle jusqu'à 30°C.

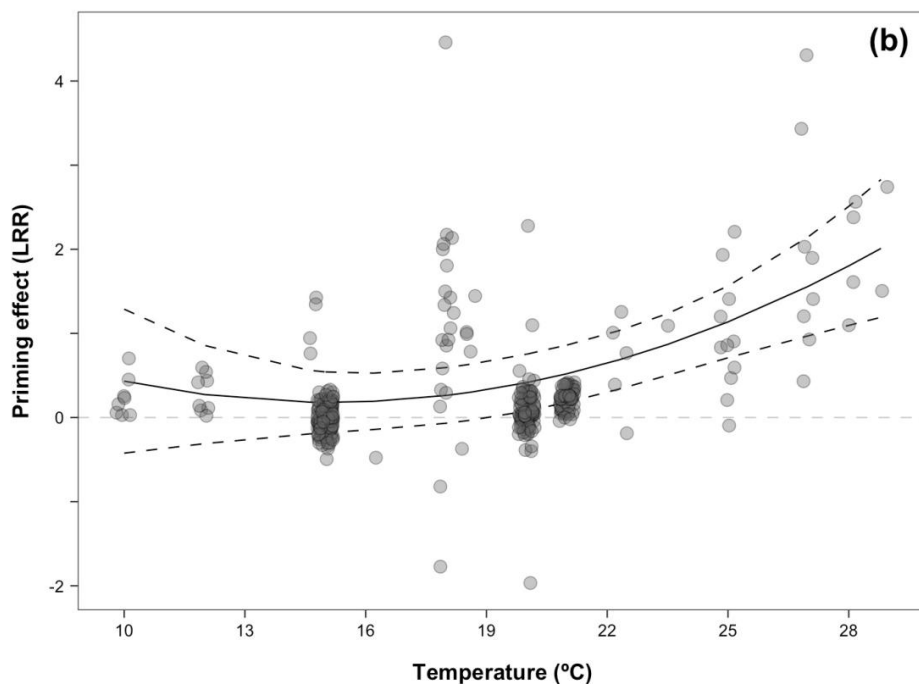


Fig. T10 Effet de la température sur la réponse du PE (ratio log-transformed, tiré de Sanches et al. en cours de publication).

1.7.2. Effet de la stoechiométrie

Tel que l'énonça [Jeremias Benjamin Richter](#) en 1792 « La stœchiométrie est la science qui mesure les proportions quantitatives ou rapports de masse dans lesquels les éléments chimiques sont impliqués ».

Ce concept fut rapidement étendu au delà de la chimie, notamment vers la biologie, et plus précisément vers l'écologie, par [Liebig \(1840\)](#), [Lotka \(1925\)](#) puis [Redfield \(1958\)](#). Mais, ce n'est que bien plus récemment que la théorie de la « Stoechiométrie Ecologique » fut développée en tant que discipline ([Elser et al. 1996](#), [Sturner & Elser 2002](#)) et clairement définie en tant qu'approche de l'écologie prenant en compte l'équilibre de plusieurs éléments chimiques dans les interactions biotiques et les processus écologiques. La stoechiométrie écologique explicite la façon dont les principaux éléments biochimiques (C, N, P, Fe, Si, K...) circulent dans les chaînes trophiques, i.e. entre les différents compartiments biotiques que sont les producteurs primaires, les consommateurs primaires et secondaires. C'est cette discipline qui permet explicitement de faire le couplage entre les cycles géochimiques et la composition chimique des organismes impliqués dans ces cycles ([Luo et al. 2006](#); [Lugato et al. 2018](#)), amenant ainsi un certain renouvellement de la **biogéochimie**. L'écologie stœchiométrique se base notamment sur le principe d'homéostasie, qui peut être défini comme la capacité d'un organisme à conserver une composition chimique relativement stable et précise malgré la différence de composition qui existe entre lui, son environnement et ses ressources.

➤ En milieu terrestre

Dans notre présentation des théories du PE, nous avons clairement souligné que le PE est très lié à la stoechiométrie des microorganismes et de la SOM ([Kuzyakov et al. 2000](#); [Fontaine et al. 2004](#); [Fontaine et al. 2011](#); [Liu et al. 2018](#); [Wang et al. 2016](#); [Ohm et al. 2007](#); [Hamer & Marschner 2005](#); [Zhu & Cheng 2011](#); [Fang et al. 2015](#), [Perveen et al. in prep](#)) et semble en être l'un des causes principales— si ce n'est la première. En caricaturant, nous avons pu voir que si l'énergie carbonée en détermine l'intensité, la stoechiométrie peut quant à elle en déterminer le signe, pouvant le faire passer de positif, tel qu'il fut initialement observé et théorisé, à négatif. L'incidence de la stoechiométrie sur le PE est donc capitale en ceci qu'elle peut contribuer à faire passer un système sujet au PE de source

de C pour l'atmosphère à en puits de C et réciproquement. Or, dans notre histoire contemporaine, la stoechiométrie est elle aussi sujette à des bouleversements... En particulier, la fertilisation azotée a conduit à une sur-disponibilité de l'azote, en milieu aquatique comme en milieu terrestre.

La satisfaction des besoins en azote des microorganismes via le nutrient mining est un déterminant de premier ordre de l'intensité et du signe du processus de priming effect qui se produit en cas de carence en azote dans la solution de sol (Chen et al. 2014). Suite à un apport d'énergie labile, les microorganismes auront l'énergie nécessaire pour investir dans un effort enzymatique dans l'extraction de ces nutriments limitants de la matière organique persistante du sol, c'est à dire qu'ils induisent un priming effect. Mais, si l'azote minéral n'est pas limitant, le besoin en nutriments diminue, comme l'intensité du PE. Très récemment, des études ont cependant suggérées que d'autres déterminants majeurs seraient à l'œuvre, tel que le type de molécules utilisées (Mason-Jones et al. 2018) ou encore leur niveau de récalcitrance (Lonardo et al. 2017).

L'hypothèse du nutrient mining s'est vue remise en question dans cette étude de Mason-Jones et ses collaborateurs de 2018 que nous avons déjà évoquée. Dans celle-ci, les résultats obtenus ont tous été en contradictions avec les hypothèses émises sur la base du nutrient mining. Les auteurs ont, entre autres, mesurés un PE induit par l'alanine (acide aminé, C:N=2,6) supérieur à celui induit par le glucose à C équivalent, ainsi que celui induit par glucose + N minéral, à C:N équivalent. Ils conclurent ainsi que le type de molécules apportées serait un déterminant prépondérant par rapport à la stoechiométrie. (Mason-Jones et al. 2018). Cela suggèrerait, soit que la représentation actuelle du mécanisme de nutrient mining est incomplète, soit que d'autres mécanismes étaient à l'œuvre dans leur expérimentation et que l'hypothèse du nutrient mining ne suffit pas à elle-seule à rendre compte des observations.

Cependant, avant de remettre en question la théorie, intéressons-nous aux faits qui semblent l'invalider. C'est dans ce souci de parcimonie que quelques réserves me sont apparues quant aux conclusions. Entre autres choses, 3 points méritent selon moi d'être discutés :

1. Nous n'avons pas accès à la stoechiométrie du sol utilisé dans cette étude, ce qui suggère qu'elle n'a pas été contrôlée. Or, lorsque l'on s'interroge sur des aspects

stœchiométriques en écologie, il me semble imprudent de ne pas prendre en considération la stœchiométrie de tous les compartiments en interaction, i.e. des éléments limitants dans le sol (dans ce cas précis) pour les différents groupes fonctionnels au sein des communautés microbiennes, et non seulement de celle de l'apport de OM labile. En effet, le nutrient-mining ne se limite par définition pas au N-mining, et on peut imaginer que, dans le contexte de l'étude, la limitation ait été déplacée de l'azote vers un autre élément (e.g. le P, K ...), faisant alors basculer le système d'un éventuel N-mining à P-mining par exemple.

2. De plus, les apports de OM labile ont été fait de manière à les standardiser sur leur stœchiométrie, mais cette démarche traduit une hypothèse implicite posée par les auteurs, et à mon sens non négligeable. Cette standardisation s'est fait sur le C:N sans prendre en considération de reste des caractéristiques des apports, comme si les différentes formes de C et de N ici apportées étaient équivalente. Or, lorsque qu'un C:N de e.g. 2,6 est appliqué sous forme d'alanine, le C et le N sont présents dans une même molécule, en l'occurrence organique. Par conséquent lorsque du C est capté, le N l'est forcément. Mais lorsque qu'un C:N de 2,6 est appliqué sous forme de glucose et de N minéral, le C:N est effectivement identique en quantité mais pas en qualité ni en disponibilité.

- En qualité car, si le glucose est bien une molécule organique simple, le N sous forme de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ est quant à lui sous forme minérale. Or, entre une forme de N minérale et une forme organique simple et directement assimilable, la forme minérale sera probablement moins efficacement métabolisée.
- En disponibilité, car là où C et N sont regroupés dans une molécule, ce n'est pas le cas pour l'apport de glucose et N minéral. Lorsque qu'un microorganisme capte du C, cela n'induit pas nécessairement une captation du N, et *vice versa*.

3. Par ailleurs, leur apport de C (C_{apport}) représentait de 45% à 90% du C estimé dans la biomasse microbienne (C_{mic}) du sol. Or en 2008, [Blagodatskaya & Kuzyakov](#) argumentaient sur le fait que de tels ratio $C_{\text{apport}}/C_{\text{mic}}$ inférieurs ou égaux à 1 induisaient du PE apparent, dont les mécanismes sont bien différents et qui rendraient par là-même, selon ma lecture, les conclusions caduques puisque hors-sujet.

Quoiqu'il en soit, comme pour tout résultat isolé, il demande à être confirmé par d'autres études indépendantes. Pour l'heure, nous considérerons le nutrient-mining comme un mécanisme explicatif robuste et donc exploitable pour interpréter les résultats du PE.

➤ En milieu aquatique

Les perturbations stœchiométriques que connaissent les surfaces continentales se répercutent fatalement sur les écosystèmes aquatiques par les processus d'érosion de la matière organique terrigène, le ruissellement et l'infiltration de molécules organiques dissoutes, mais aussi par l'érosion aérienne et les dépôts d'aérosols par les vents (« dry deposition ») et les pluies (« wet deposition ») (Fig. T12) (Morelli et al. 2018) ainsi que par l'apport direct de débris végétaux terrestres aux écosystèmes aquatiques.

Il a été démontré que les nutriments tels que N ou P influencent fortement la productivité primaire des écosystèmes aquatiques (continentaux et marins) dans lesquels ils sont souvent limitants (Rockström et al. 2009; Conley et al. 2017; Michalak et al. 2013). Dans ce contexte, les activités anthropiques sur les surfaces continentales engendrent des apports considérables de nutriments vers les systèmes aquatiques, induisant ainsi des augmentations quantitatives et qualitatives du phénomène d'eutrophisation avec son lot d'effets délétères sur les écosystèmes (Sun 2018; Michalak et al. 2013; Nixon 1995). Or, qui dit limitation en nutriments, dit mise en place probable du PE directement au sein des communautés des décomposeurs, mais aussi à un niveau plus intégré avec l'interaction des producteurs primaires. En effet, de façon analogue au RPE observé dans les sols, l'activité des producteurs primaires aquatiques impacte le PE du fait de la biomasse qu'ils produisent, mais aussi des molécules simples exsudées dans le milieu. Ceci a été confirmé par l'équipe de Halvorson et al. en 2016 qui observa en milieu dulcicole, comme attendu, une diminution du PE lié à l'augmentation de la disponibilité en N et P. Cependant l'impact de la stoechiométrie en milieu aquatique semble atténué par rapport au PE dans les sols. Une récente méta-analyse a suggéré que les éléments nutritifs de la matière organique récalcitrante dans les systèmes aquatiques seraient moins concentrés que dans les sols, ce qui expliquerait pourquoi la réponse du PE consécutive à l'addition de nutriments est différente dans les deux systèmes (Bengtsson et al. 2018). Par exemple sur la figure T11 on peut voir le résultat d'une review (Sanches et al, en cours de soumission) sur l'effet l'apport de nutriments N, P et N+P sur l'intensité et le signe du PE. Il apparaît que ces apports de nutriments ne modifient pas significativement les résultats de PE.

Bien qu'il soit attendu, au regard de la définition actuelle du PE, que la PE aquatique soit lui aussi un processus basé sur la stoechiométrie, les résultats ne semblent pas clair et mériteraient des études spécifiques pour tester cette hypothèse.

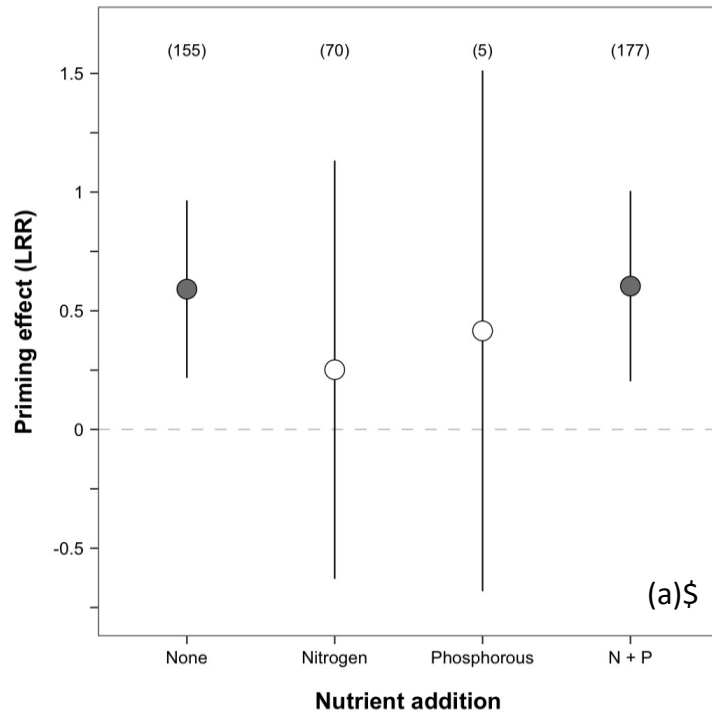


Fig T11. Effet de la température sur la réponse du PE (ratio log-transformed, tiré de Sanches et al. en cours de publication).

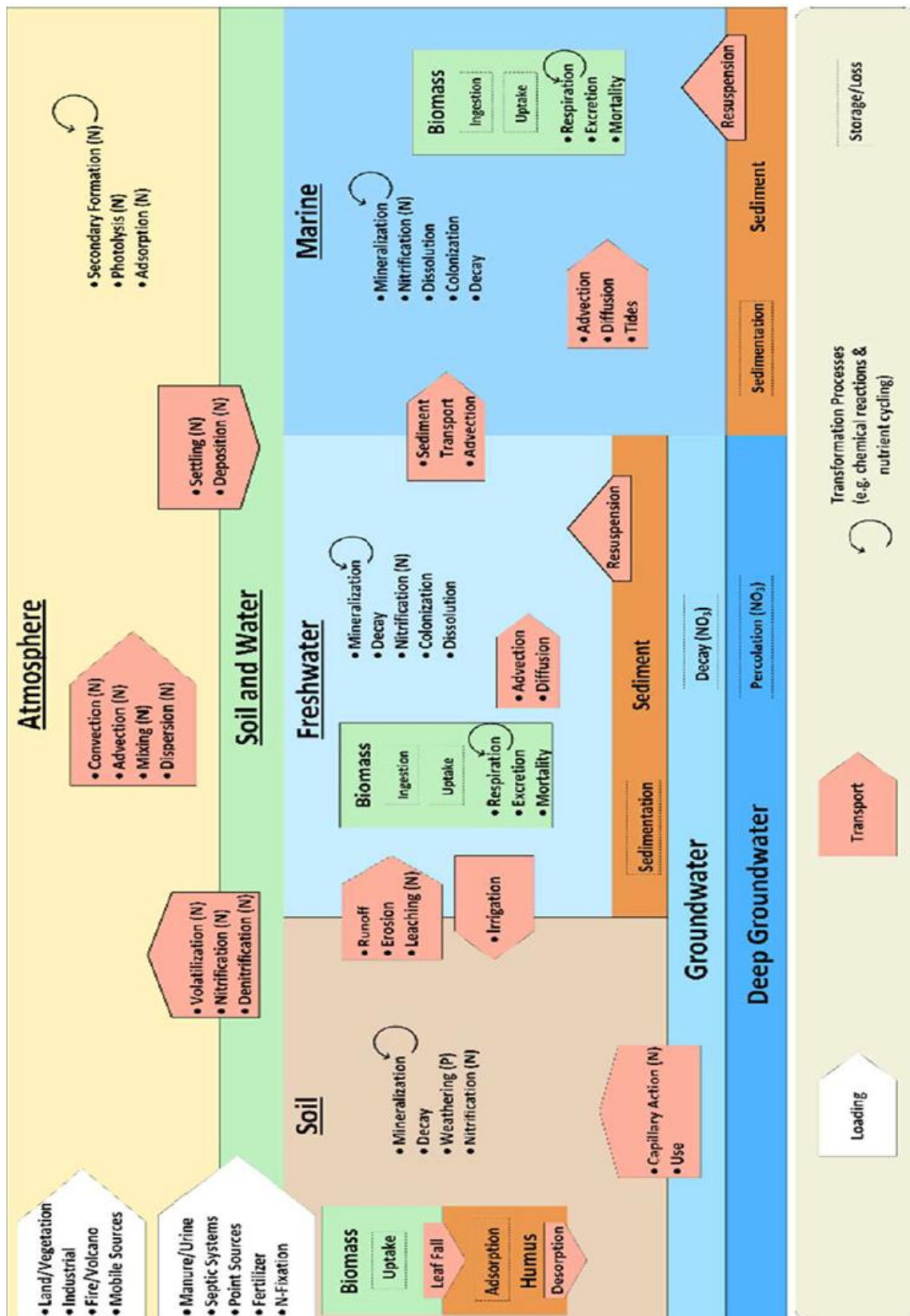


Fig. T12 Flux de nutriments N et P entre les différents compartiments de la biosphère, induisant des variations stœchiométriques et jouant un rôle sur le phénomène d'eutrophisation (tiré de Morelli et al. 2018).

1.7.3. Conclusion sur les effets des changements globaux sur le priming effect

Tant il compte de nuances, de subtilités et d'exceptions, cet aperçu du PE donne presque le sentiment que l'on a à faire à un concept valise, dans lequel on tenterait de faire entrer trop de faits, d'acteurs, de processus, n'ayant pas réellement de lien entre eux et de logique commune. Comme si, selon le mot d'Abraham Kaplan, « Quand on a l'esprit en forme de marteau, on voit les problèmes en forme de clous ».

Pourtant, qu'il soit terrestre ou aquatique, réel ou apparent, positif ou négatif... il semble que toutes ces déclinaisons du priming effect puissent être ré-unifiées et considérées comme les résultats de très nombreuses combinaisons entre seulement deux dénominateurs communs : la dimension **thermodynamique** (énergétique) d'une part, et **stœchiométrique** d'autre part. Ce cadre de lecture pouvant s'exprimer dans une infinité de conditions biotiques et abiotiques (y compris spatiales). C'est de cette complexité que l'on pourrait qualifier d' « écogéochimique » que l'étude du PE se révèle aussi délicate que difficile.

CHAPITRE 2 : *Objectifs et plan de la thèse*

La hausse ou la baisse des stocks de carbone organique dans les sols et les sédiments impacte, comme nous l'avons vu, de multiples dimensions de l'environnement. Prévoir cette hausse ou cette baisse est un enjeu scientifique majeur pour la fiabilité des prédictions de la dynamique de la chimie de l'atmosphère et du climat, ainsi que de la fertilité des sols. De par son intensité, son signe, sa généralité trans-milieux ainsi que sa capacité à induire une sur-minéralisation de C parfois extrêmement ancien et considéré comme très fortement stabilisé vis-à-vis de la dégradation microbienne, le PE a reçu l'intérêt d'une communauté scientifique croissante. Or, des résultats récents suggèrent, comme on pouvait s'y attendre, que la prise en compte du PE dans des modèles – de dynamique de SOM ou des modèles de surface qui représentent les flux de C entre les écosystèmes et l'atmosphère – a pour effet de modifier totalement la tendance prédite par ces modèles. Un modèle de surface sans représentation du PE peut en effet prédire un stockage net de C des sols alors qu'avec le PE ce même modèle peut prédire un déstockage de C des sols et donc de plus fortes émissions vers l'atmosphère (Guenet et al. 2013, 2018).

Plus que les aspects mécanistiques fins, les différentes expérimentations menées dans cette thèse furent élaborées de façon à interroger les conséquences du PE sur le bilan de stockage-déstockage du C, tant en milieu terrestre qu'aquatique, ainsi que sur la sensibilité du PE aux perturbations induites par les changements globaux. La principale hypothèse défendue ici est que le priming effect est un phénomène majeur de l'équilibre entre stockage et déstockage du carbone organique dans tous les écosystèmes, marins, dulçaquicoles et terrestres (Guenet et al. 2010), avec des conséquences directes fortes sur le fonctionnement de ces écosystèmes et sur la biogéochimie globale du carbone (Heimann & Reichstein 2008).

Ce projet de thèse a émergé de la conviction que le PE doit faire l'objet d'un effort de recherche soutenu afin de pouvoir être incorporé aux outils de prédiction de la dynamique des écosystèmes, de l'atmosphère et du climat, sous peine de la réduction de la fiabilité des prédictions produites par ces outils. En plus de cet aspect prédictif global, le projet s'inscrit également dans une démarche d'ingénierie écologique avec la conviction que le PE est susceptible d'être géré dans certaines situations.

2.1. Objectifs spécifiques au milieu terrestre

Dans la partie terrestre, trois objectifs ont ainsi été visés. Ils répondent respectivement à des enjeux théoriques, d'ingénierie écologique et de prédiction :

- Avancer sur une théorie générale du priming effect en milieu terrestre, en testant son occurrence, son signe et son intensité en milieu forestier vs. agricole.
- Evaluer la réponse du priming effect à l'élévation de la température, à l'usage de fertilisants ternaires (NPK) et de changement d'usage des terres sur les sols forestiers et agricoles.
- Tester notre capacité à moduler la réponse du PE en jouant sur l'accessibilité aux nutriments (i.e. stoechiométrie) et la qualité de la OM (i.e. accessibilité à l'énergie). En ce qui concerne la qualité de l'OM dans un contexte agricole, notre idée est que la maîtrise du PE pourrait permettre d'augmenter les stocks de carbone organique dans les sols (ou du moins d'en atténuer les pertes), ce qui constituerait de fait un outil potentiel de mitigation et d'adaptation aux changements globaux, ainsi que de restauration ou d'amélioration de la productivité des écosystèmes continentaux cultivés.

2.2. Objectifs spécifiques au milieu aquatique

De façon parallèle, nous avons abordé la question du PE en milieu aquatique. Le PE est un processus encore relativement peu étudié de manière explicite en milieu aquatique. De ce fait, notre travail en contexte aquatique comporte une importante dimension méthodologique de mise au point des systèmes expérimentaux nécessaires. Cette étape franchie, nous avons pu tester les réponses du PE aux changements globaux, i.e. au réchauffement climatique, à l'érosion des sols et à l'eutrophisation. Nous avons donc 3 objectifs :

- Comprendre le rôle du PE dans le devenir de la OM allochtone (apportée suite à l'érosion continentale causée par les activités anthropiques)
- Evaluer la réponse du PE au changement global (spécifiquement, stoechiométrie et température).
- Tester notre capacité à moduler la réponse du PE en jouant sur l'accessibilité aux nutriments (i.e. stoechiométrie) et sur la disponibilité en énergie, sous forme, thermique et carbonée. Ceci dans une perspective d'optimisation de stratégies d'ingénierie écologique, tant pour des applications telles que le stockage de CO₂ via la production de biomasse que pour des problématiques d'épuration et de bioremédiation des eaux usées.

Pour répondre à ces objectifs, une attention particulière fut portée aux interactions entretenues entre le compartiment des décomposeurs et celui des producteurs primaires.

CHAPITRE 3 : Le priming effect en milieu terrestre

Le design de l'expérimentation sur le priming effect en contexte terrestre a été élaboré de manière à répondre à l'ensemble des problématiques présentées plus haut. Pour ce faire, les différents facteurs ont été croisés de manière à tester leurs effets simples et leurs interactions, en cherchant à éviter au maximum les facteurs confondants qui pourraient affaiblir les interprétations. Ceci a abouti à l'établissement de 40 traitements différents, tous répliqués 4 fois, soit 160 microcosmes. Ainsi, 5 modalités d'apport de matière organique furent appliquées sur 2 sols [agricole et forestier], sous 2 niveaux de nutriments NPK [sans apport ou avec apport] et sous deux températures [15°C ou 20°C], tel qu'illustré dans la figure 13.

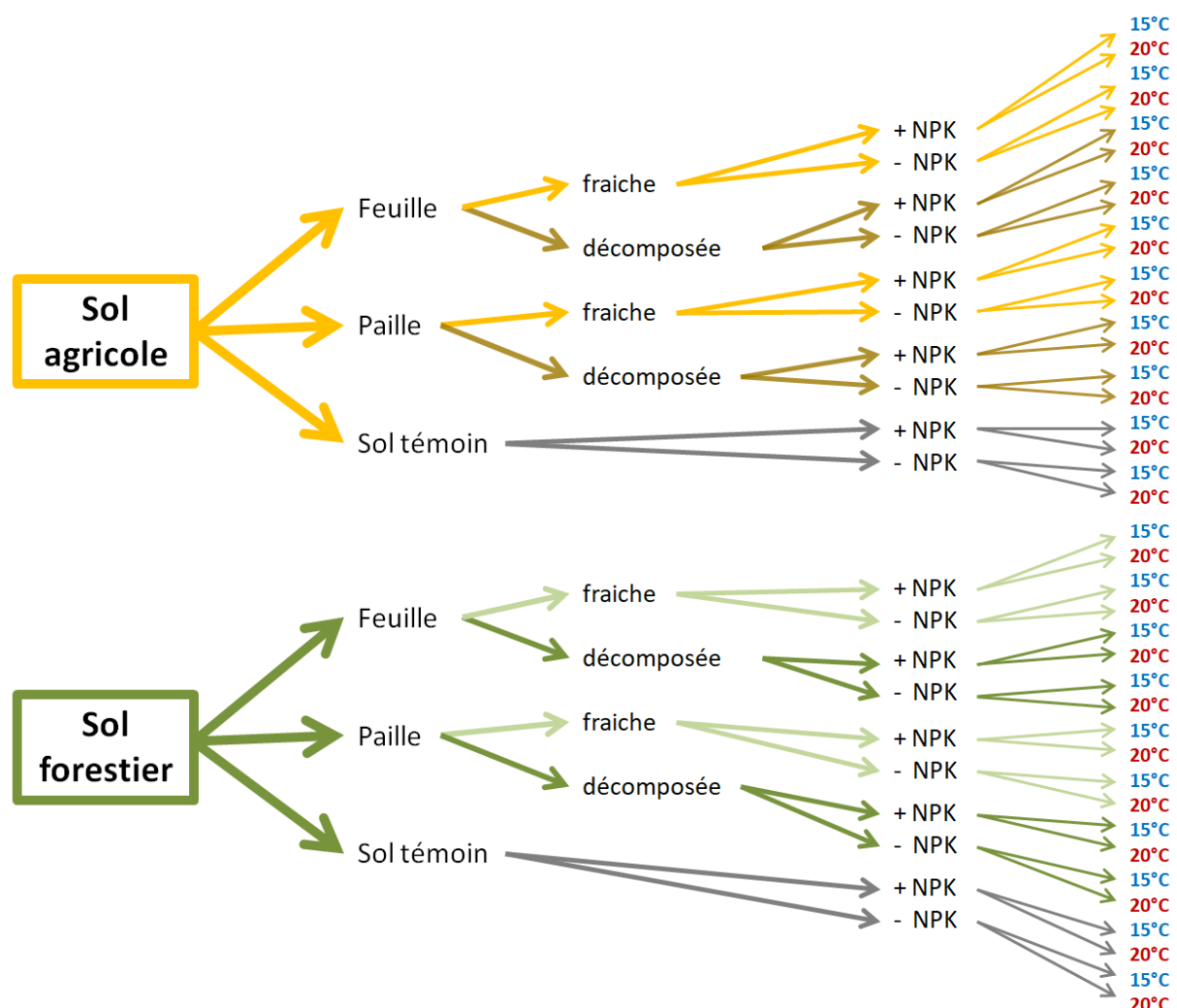


Fig. T13. Design de l'expérimentation terrestre, i.e. pour les 40 traitements différents (répliqués 4 fois). La paille de blé ainsi que les feuilles d'arbre (*Liquidambar*) ont été apportées fraîches ou pré-décomposée à raison de 50mg de C par gramme de C de sol. Dans les traitements avec apport de nutriments minéraux (notés +NPK), ces derniers y furent apportés de manière identique, mimant ainsi l'effet des engrais de base ternaires.

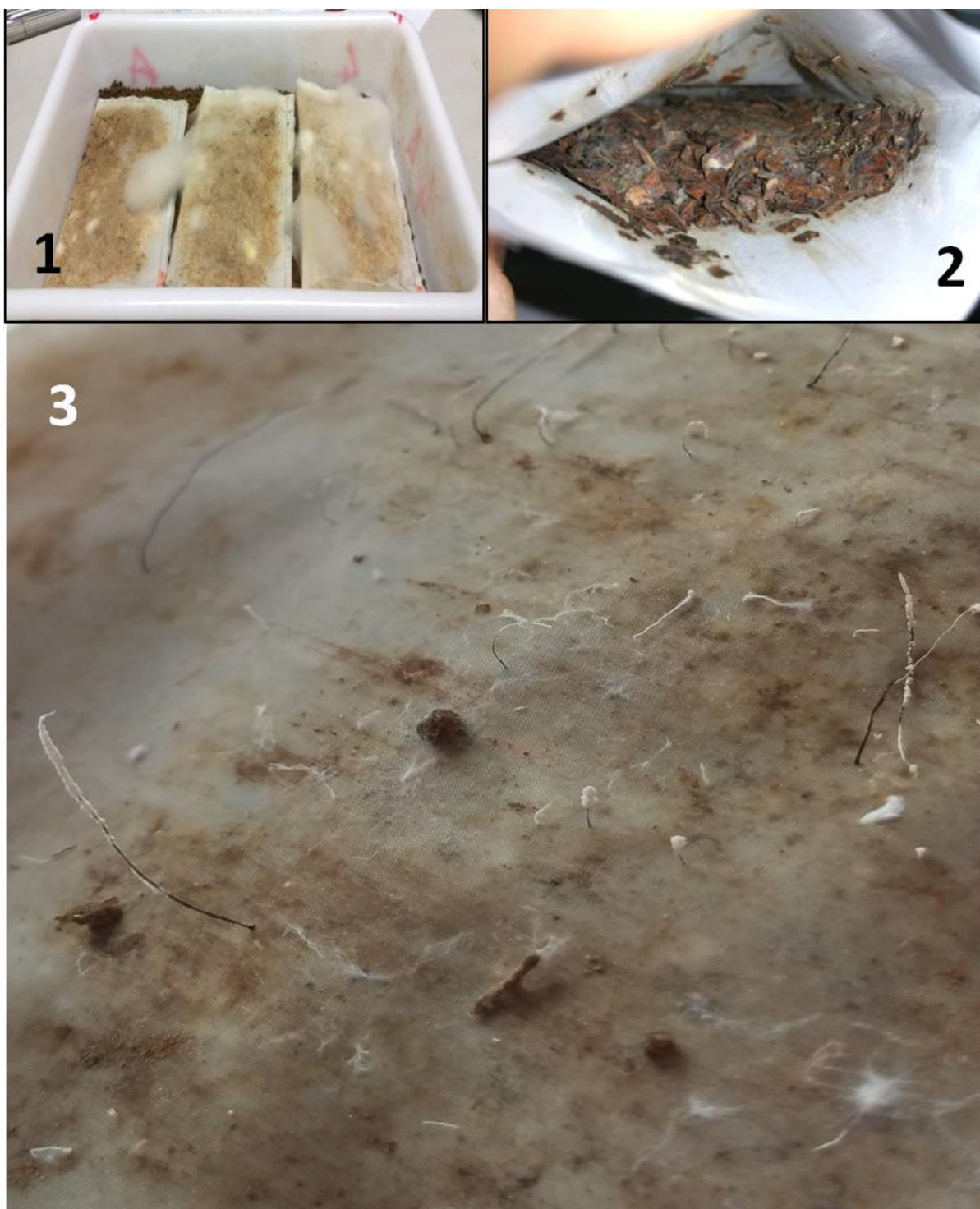


Photo. T 1,2,3 Litterbags servant à l'étape de pré-décomposition de nos résidus végétaux. 1 : paille, 2 : feuille, 3 : gros plan litter-bag feuille traversé par des hyphes mycéliens

3.1. Composting crop residues before their return to soils increases carbon sequestration in agroecosystems

Cet article a été rédigé dans une perspective d'agroécologie, c'est à dire d'application du concept de priming effect à la gestion du carbone organique des sols agricoles. Il est basé sur une petite partie du protocole général, soit 3 traitements sur 40 représentant 12 microcosmes sur 160. Les données ont été traitées selon une double approche : statistique d'une part, et modélisatrice d'autre part. Cependant, le modèle n'ayant pas pu être avancé suffisamment vite à un niveau satisfaisant, il ne sera pas présenté dans la thèse, mais continuera à être développé ultérieurement.



Photo T4 Microcosmes expérimentaux utilisés pour l'expérimentation en milieu terrestre.

Composting crop residues before their return to soils increases carbon sequestration in agroecosystems

Authors: Raphaël Guttières^{1*}, Gérard Lacroix^{2,3}, Sébatien Barot⁴, Pierre Barré⁵, Bertrand Guenet⁶, Jean-Christophe Lata¹, Naoise Nunan², Xavier Raynaud¹, Luc Abbadie¹

Affiliations:

¹Sorbonne Université, CNRS, INRA, IRD, Université Paris Diderot, UPEC, Institut d'Ecologie et des Sciences de l'Environnement – Paris (iEES-Paris), 7 quai St Bernard, F-75252 Paris, France.

²CNRS, Sorbonne Université, INRA, IRD, Université Paris Diderot, UPEC, Institut d'Ecologie et des Sciences de l'Environnement – Paris (iEES-Paris), 7 quai St Bernard, F-75252 Paris, France.

³CNRS, UMS 3194 (ENS, CNRS), CEREEP – Ecotron IleDeFrance, Ecole Normale Supérieure, 78 rue du Château, 77140 St-Pierre-lès-Nemours, France.

⁴IRD, Sorbonne Université, CNRS, INRA, Université Paris Diderot, UPEC, Institut d'Ecologie et des Sciences de l'Environnement – Paris (iEES-Paris), 7 quai St Bernard, F-75252 Paris, France.

⁵CNRS, PSL Research University, Laboratoire de Géologie de l'ENS, 24 rue Lhomond, 75231 Paris cedex 05, France.

⁶CNRS, CEA-CNRS UVSQ, Université Paris-Saclay, Laboratoire des Sciences du Climat et de l'Environnement, LSCE/IPSL, F-91191 Gif-sur-Yvette, France.

*phd.rguttieres@gmail.com

Short title: (Please keep to under 40 characters including spaces)

Crop residues affect soil organic carbon

Abstract: (less than 125 words)

Natural soil conversions for agriculture and associated management practices have induced continuous losses of soil organic matter (SOM). Cumulated losses since 1750 represent 1/3 of anthropogenic carbon emissions in the atmosphere. Increasing SOM is thus essential for

improving soil fertility and mitigating climate change. We manipulated experimentally wheat straw degradability for controlling its capability to induce a priming effect on SOM (PE: stimulation of stable OM mineralization by labile OM). Incorporating pre-decomposed rather than fresh straw into soils reduced PE by 5 folds and SOM mineralization by 17%. We advocate the implementation of an alternative management of agricultural residues as a win-win strategy for climate change mitigation and soil fertility improvement.

One Sentence Summary:

The stage of decomposition of straw incorporated to soil can improve soil fertility and make soils carbon sinks.

Main Text:

The loss of organic carbon has been identified as a major process of the soil degradation worldwide (1). Since the beginning of agriculture, the conversion of natural ecosystems to managed ones and the evolution of agricultural practices have led to a major loss of fertility through a 25-75% decrease of soil organic matter (SOM) in cropland soils compared to their undisturbed counterparts (2). At a global scale, this has resulted in the emission of 225 GtC since 1750 (3). Emissions from fossil fuels and deforestation led to a mean net increase of 4.7 GtC year⁻¹ of carbon into the atmosphere on the period 2007-2016 (3). Considering the 860 GtC contained in the first 40 cm of soils (4), these data are at the origin of the "4 per 1000" international initiative (5), which proposes a compensation of the global increase of annual emissions of greenhouse gases by increasing SOM by roughly 4‰ each year (4). Practically, this means driving the balance between two antagonistic processes: the incorporation of dead plant material to soil, and the mineralization of SOM. In agricultural conditions, a better management of crop residues could help to achieve this objective. Most studies that compared crop residue incorporation to crop residue removal revealed a positive, although highly variable, effect of residue incorporation on the soil organic carbon content (6-13). The studies (8, 11-13) that considered long-term experiments indicated that the annual rate of SOM sequestration declined with time, suggesting that a new equilibrium was reached in most cases after a few decades. Two non-exclusive mechanisms may explain this finite capacity of agricultural soils to store carbon (14). The first mechanism (15, 16) is

associated to the protection (organo-mineral interactions or reduced accessibility) of a part of the SOM by the fine-sized (<20 μm) mineral fraction. The second mechanism proposed is the priming effect (PE). PE is the stimulation of microorganism activity by the supply of fresh organic matter through co-metabolism, i.e. the degradation of a refractory (complex) substance in the presence of a readily degradable (simple) substrate (17, 18). If SOM mineralization is limited by the energy supply to microorganisms, increased inputs of fresh plant residues (rich in labile and energetic compounds) might therefore accelerate old SOM mineralization.

Properties	Soil	Wheat straw	
		Fresh	Decomposed
Total Organic C (g kg^{-1})	12.94	398.2	388.5
Total N (g kg^{-1})	1.42	11.0	34.9
C:N ratio	9.13	36.44	11.15
Total P (g kg^{-1})	0.062	1.45	6.99
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	-25.2	5871.5	5343.6
Water Holding Capacity (%)	39.8		
Bulk Density (g cm^{-3})	1.25		
pH	7.5		

Table 1. Chemical and physical characteristics of the model agricultural soil and of the fresh and decomposed plant residues.

Increasing the level of carbon in soils is of major interest both for improving soil fertility and mitigating climate change. Our capacity to manipulate the PE has never been investigated to date. Here, we studied the possibility of reducing the intensity of PE after the incorporation of plant residues into agricultural soils by changing their chemical quality, i.e. their labile:recalcitrant compound ratio. Our approach was to pre-decompose ^{13}C -enriched wheat straw under laboratory conditions in order to reduce the concentration in readily degradable compounds whilst increasing that of the more recalcitrant compounds. This was obtained by incubating straw for 3 months in litterbags (at 25°C, on soils maintained at 80 % of their water holding capacity) prior to its incorporation into soil. The soil used was a Luvisol (typical of the Ile-de-France Region) under cereal crops (Table 1). After 3 months of pre-decomposition in litterbags, the characteristics of the pre-decomposed straw (DS) were, as

expected, significantly different from those of the fresh straw (FS) (Table I). Overall, 72.35% of the carbon content was lost during this incubation stage, leading to a highly significant decrease of the C:N (3 fold) and C:P (5 fold) ratios. After this pre-incubation stage, soil alone as a control, soil mixed with ground ^{13}C -labelled FS, or soil mixed with ground ^{13}C -labelled DS (both FS and DS were incorporated into soil samples at the rate of 50 mg C.g^{-1} soil; see supplementary information) were incubated à 15°C over 101 days. Once incorporated into the soil, DS was mineralized at a much slower rate than FS (Figure 1): while 40.5 % of FS was mineralized during the 101 days of the experiment, only 7.3 % of the pre-decomposed straw was mineralized (Fig. 1).

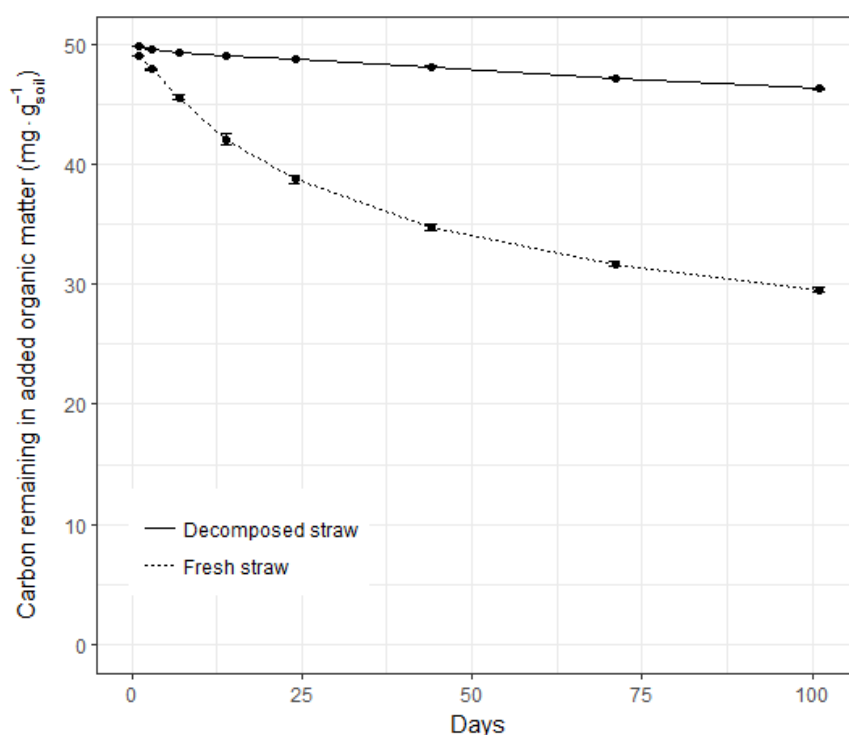


Fig. 1 Kinetic of carbon loss from wheat straw buried in soil, added in a fresh or pre-decomposed state

During the incubation experiment with the Luvisols, the amount of CO_2 in the flasks and the CO_2 stable carbon isotope ratios were measured at 8 dates. This allowed disentangling the CO_2 emissions from SOM and from the straw. Knowing the $\delta^{13}\text{C}$ -signatures of the soil and of straw residues, we estimated the rate of stimulation of SOM mineralization induced by the fresh and decomposed straws (i.e. PE). At the end of the experiment, the effects of the input of fresh and pre-decomposed plant residues on SOM mineralization were dramatically

different (Fig. 2). FS induced a highly significant PE, with a 20.5% increase in the mineralization of the SOM by the end of the experiment relative to the control ($P < 0.0001$). In contrast, the increase in SOM mineralization only attained 4.1% and did not differ significantly from 0 ($P = 0.141$) when DS was added, suggesting that PE was minimal in this treatment. Moreover, the total amount of SOM mineralized over the course of the experiment was highly significantly higher for the FS treatment than for the DS one ($P < 0.001$). Overall, the total PE induced by the addition of straw was 5 fold higher when plant residues were not pre-decomposed. Kinetically, the PE induced by fresh residues was maximal at day 7, but the daily excess mineralization remained close to 20% for the duration of the experiment after this first peak (Fig. 3). The daily PE associated with FS was always higher (from 1.9 to 14.6 fold) than the PE associated with DS (Fig. 3).

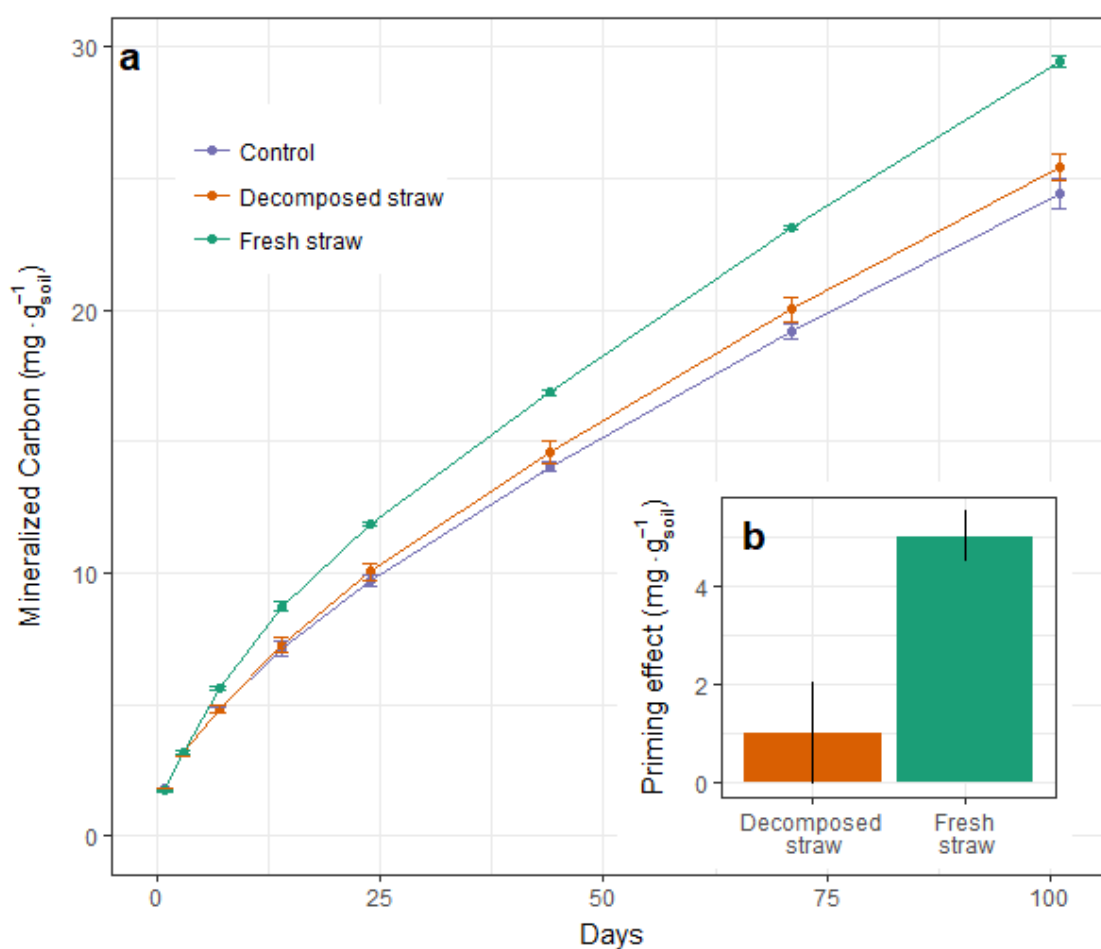


Fig. 2 Kinetic of cumulative C-CO₂ released from soils non-amended (Control) or amended with pre-decomposed or fresh wheat straw. in inset: the cumulative PE at the end of incubation, for soils amended with pre-decomposed or fresh wheat straw. Data are means of 4 replicates \pm standard errors

Fresh straw and, more generally, fresh plant debris are rich in simple energetic molecules such as glucose and xylose (19) that are expected to stimulate SOM-mineralizing microorganisms. On the other hand, it has been widely demonstrated that the chemical composition of plant residues undergoes deep modifications during decomposition and the ratio of recalcitrant to labile organic compounds increases, leading to a continuous slow-down of the residue decomposition rate. Many studies have shown that the accumulation of SOM results from two mechanisms in combination: (i) the high energy required for microbial catabolism of structurally complex molecules (20), (ii) bonds between soil minerals and microbially-derived compounds (21, 22). On this basis, we hypothesized: (i) that the relative concentration of labile energetic compounds would decrease during the pre-decomposition phase, and (ii) that the addition of such pre-decomposed straw would induce a smaller PE on SOM than a C-equivalent input of fresh straw. Our first hypothesis is strongly supported by the decomposition rates of FS and DS after incorporation to soil (decomposition rate 5.5 fold lower for the latter than the former): clearly, DS was much less biodegradable than FS. The magnitude of the overall PE is also in total accordance with our second hypothesis: the PE was indeed 5-fold lower after the addition of DS than after the addition of FS. Overall, the total organic carbon (C-SOM + C-straw) in the soil remained stable when FS was added while it increased by roughly 1.6 per 1000 when DS was added in our experiment. The first mechanism (greater resistance to further breakdown of composted material), which contributed to the increase in the total carbon content of soils in the DS treatment, has been previously highlighted (8, 23). To our knowledge, the second mechanism (reduction of PE on SOM) has never been considered: although a number of studies (24, 25) have shown that the incorporation of fresh straw induces a PE, we are not aware of any analysis of the effect of the pre-decomposition of straw on the priming effect.

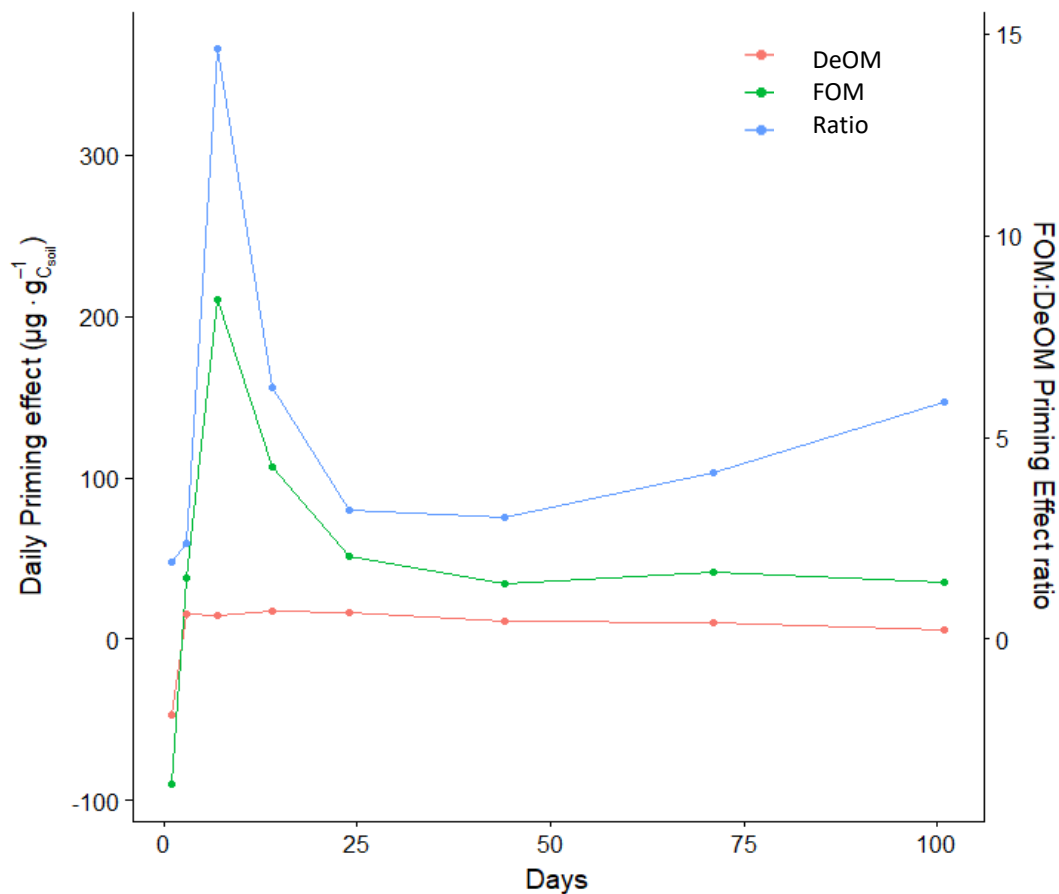


Fig. 3 Kinetic of PE from soils amended with pre-decomposed (red line) or fresh (green line) wheat straw, and PE ratio (blue line) between pre-decomposed and fresh wheat straw. Data are means of 4 replicates \pm standard errors

PE is an additional mineralization process of SOM induced by root exudation, freshly dead plant matter, and even pure C substrates in laboratory conditions. It is mainly the result of the degradation of stabilized organic compounds, several hundreds years old (up to 15,000 years in deep soil layers (26, 27)). Clearly, PE does not only decrease the amount of carbon stored in the soil, but it also destroys a carbon pool whose fate was to persist on the long term. In the context of climate change and soil fertility degradation, we claim that the PE induced by agricultural practices is an undesirable process that should be reduced as much as possible. In the light of our results, we suggest that burying pre-decomposed rather than fresh plant organic matter might be an efficient strategy for reducing carbon losses associated to PE and merits further attention, the simplest solution being to let residues as mulch on the surface for a sufficient time before their incorporation into the soil. Note that in most cases, and in particular with straw, this fresh organic matter is more easily and rapidly broken when incorporated into soils than when spread on soil surface (see

supplementary information), because of a higher contact between fresh organic matter and soil microbes and optimal conditions for OM decomposition in the soil.

More elaborate and efficient strategies might be developed for minimizing carbon losses in a global way, while maximizing carbon sequestration within soils and associated soil fertility. Indeed, two scenarios are in competition for crop residues in arable farming systems (28, 29): (i) incorporation of fresh residues to soil, and (ii) exportation of crop residues for producing bioenergy or biomaterials. Both scenarios might be important in terms of mitigation of global change effects. It has been strongly suggested (30) that exporting straw for bioenergy production (thus reducing fossil fuel utilization) would be the most efficient way to mitigate CO₂ emission and climate change. However, even low removal rates of crop residues can have disproportionately large detrimental effects on SOM content and soil quality (31). Therefore, we support previous studies (28, 32) suggesting that the export of crop residues to produce bioenergy and the return of the resulting organic fermentation by-product to soils has all the hallmarks of a win-win strategy for climate change mitigation and soil fertility conservation. Indeed, when turning back pre-decomposed organic matter in the field, the positive effects associated with the incorporation of much more stable plant OM would be the reduction of greenhouse gas emissions associated to the low decomposition rate of crop residues and the strong reduction of the risk of PE on stabilized SOM.

We do not know what might be the equilibrium level of SOC content in systems using optimized agricultural practices. However, we know precisely the effect of agricultural practices (export + PE) for the soil used in our study. Indeed, this soil has been cultivated over at least 200 years, while another site distant of only 50m has been maintained under a natural forest ecosystem dominated by oak, hornbeam and ash. While both soils are of the same type (Luvisol) and were probably identical originally, the forest soil has now 2.19 fold more organic C than the agricultural one (Table 2 in supplementary information). This result, which confirms the tremendous loss of carbon associated to deforestation for agricultural purposes, also suggests that the potential of carbon sequestration would be very high if we were able to apply management practices more respectful of the basic processes that control the accumulation of nutrients and carbon in natural ecosystems and agroecosystems (33). Considering the importance of this issue, which concerns 1/3 of continental areas (34), and the implications for ecosystem management, we recommend to conduct field

experiments in order to estimate realistic carbon budgets taking into account the complexity of cropping systems, the different steps in organic matter dynamics and the different spatial and temporal scales involved, and to test the conditions for implementing the PE management in farming conditions. We also advocate for integrating PE, not only on global earth systems models (35), but also in the models of optimization of agricultural practices for mitigating global change effects and restoring soil fertility.

Supplementary Data:

Tab 2. Chemical and physical characteristics of the two land uses for the Luvisol used here. A is for agricultural, F is for forest.

Properties	Soil	
	A	F
TOC (g kg ⁻¹)	12.94	28.34
Total N (g kg ⁻¹)	1.42	2.5
C:N ratio	9.13	11.33
Total P (g kg ⁻¹)	0.062	0.01
δ ¹³ C (‰)	-25.2	-26.4
Water Holding Capacity (%)	39.8	38.2
Bulk Density (g cm ⁻³)	1.25	1.15
pH	7.5	5.5

Methods

Study area and soil description.

Soil samples were collected from an agricultural field (48°84'29081 N, 1°93'46532 E, AgroParisTech domain, France). It was a silty loam (clay:silt:sand ratio was 0.22:0.70:0.08, respectively) and classified as Luvisol (FAO, 1989). It had been conducted under conventional management for several decades and had been used as cropland for at least two centuries. Soil management was characterized by rotations based on cereals, an annual tillage to 30 cm depth, mineral fertilization and exports of cereals straw (Barré et al. 2017). The mean annual temperature is 10.7°C and the mean annual rainfall is 649 mm.

Soils were sampled from 0 cm to 15 cm depth after removing the litter layer. Fresh soil was immediately transported to the laboratory, the remaining organic residues and stones were

carefully removed by hand. Soils were then dried at room temperature, sieved through a 2-mm mesh sieve and stored at lab conditions, in the dark (Lauber et al. 2010).

Chemical and physical properties of the soils are given in Table 1.

For comparison, other soil samples were taken from a soil under a forest remnant, 50m away from one side of the agricultural field, from which agricultural soil samples were taken. Although these soils were of the same type (Luvisol) and had almost the same isotopic signature, the agricultural soil had 2.19 less total C content than the forest soil (tab. 2).

Plant material & pre-decomposition phase.

We used ^{13}C -labelled fresh wheat straw ($\delta^{13}\text{C} = 5871.51\text{‰}$, from CEA of Cadarache). The chemical properties of plant residues are given in Table 1.

In order to compare the impact of the decomposition status of plant organic matter on soil respiration, half of the plant material was submitted to a pre-decomposition stage. To do so, plant material was first dried at 30 °C for 10 days, and then finely milled (2mm) before it was placed on a nylon litterbag veil with a mesh size of 35 μm . This mesh size has the advantage of allowing decomposition and seeding by the bacterial and fungal communities (Johnson et al. 2002), without the plant material being mixed with the rest of the litter. Litterbags were placed on soils brought to 80% of their respective maximum water holding capacity. All containers were then covered with Parafilm to minimize evaporation without affecting gas exchange (Wang et al. 2015) and then placed in an incubator at 25°C with air renewal, for 3 months. At the end of this step, pre-decomposed wheat straw had lost 71,7% of initial mass, 72,4% of initial C and had a $\delta^{13}\text{C}$ of 5343.62‰ (tab. 1). This pre-decomposition step also changed drastically the stoichiometry of plant residues, in particular the total N content which became *ca.* 3 times more concentrated in decomposed wheat straw (DS) (tab.1)

Experimental design.

We conducted a cross-factorial experiment with 3 types of OM addition: fresh (FS), decomposed (DS) wheat straw and control without straw (CTL), at 15°C. Experimental units consisted of 15g of dried soil, sieved at 2mm,- placed into 120ml Glass Vial at 80% of their respective water holding capacity (WHC) using osmotic water for 101 days. All treatments were done in quadruplicates.

After 9 days of soils pre-incubation at 15°C and 80% of WHC – to prevent Birtch effect, 50mgC.gsoil⁻¹ of ¹³C-labelled OM (FS or DS) was added and mixed to distribute the material homogeneously. Control soils without OM addition were also mixed to apply the same physical disturbance. Head-space was flushed with CO₂-free air and then immediately sealed with hermetic septum.

CO₂ & δ¹³C measurements.

The kinetic of CO₂ concentrations (ppmv) and δ¹³C-CO₂ (‰) were determined at days 1, 3, 7, 14, 24, 44, 71 and 101 after OM addition. At each sampling date, a gas sample was taken from the flask's headspace and analysed using a micro gas chromatograph (Agilent, 490-PRO Micro GC System) for CO₂ concentrations. A second gas sample was taken and stored in 12ml glass vial under vacuum for afterward δ¹³C measurement using a FISIONS OPTIMA Isotope Ratio Mass Spectrometer, coupled to an ISOCHROM-GC. After each CO₂ sampling, all the flasks were flushed with moistened CO₂-free air and sealed with a new septum.

Partitioning of CO₂-C from FOM and SOM sources & PE calculation.

Thanks to the differences in δ¹³C signatures between added OM (FS or DS) and SOM, total CO₂-C emissions measured from the incubation vials (C_{Total}) could be separated into SOM-derived CO₂-C and added OM-derived CO₂-C emissions (C_{SOM} and C_{add.OM}, respectively) using the following two end-members mixing equations ([Mary et al. 1992](#); [Cheng 1996](#)):

$$C_{SOM} = C_{Total} \times (\delta_{Total} - \delta_{add.OM}) / (\delta_{CTL} - \delta_{add.OM})$$

$$C_{add.OM} = C_{Total} - C_{SOM}$$

where C_{Total} is the total CO₂-C emission measured from incubation vials under different treatments, C_{SOM} is the SOM-derived CO₂-C emissions, C_{addOM} is the added OM-derived CO₂-C emissions, and δ correspond to the measured δ¹³C in the respective compartment (where CTL correspond to control treatment). We considered that fractionation during the biodegradation processes was negligible ([Mary et al. 1992](#)).

PE was calculated as follows:

$$PE = C_{SOM} - C_{CTL}$$

where C_{CTL} is the SOM-derived CO₂-C emissions in the control treatment (which is equal to total CO₂-C emission in CTL treatment).

Data analyses

Statistical analyses were carried out using R version 3.4.1 (R Core Team (2017)). Homogeneity of variances of data was tested prior to analyses and no data transformations were necessary. Data are presented as the means of four replicates with standard errors. Analysis of variance (ANOVA) were used to examine differences in cumulative CO₂ respiration (including total CO₂, SOM-derived CO₂ and added OM-derived CO₂) and PE (including relative PE and cumulative PE) at the end of experimentation, among treatments. Tukey's HSD post hoc test was used to identify statistically significant differences among the treatments.

References and Notes:

1. R. Lal, Digging deeper: A holistic perspective of factors affecting soil organic carbon sequestration in agroecosystems. *Glob. Change Biol.* **24**, 3285–3301 (2018).
2. R. Lal, W. Negassa, K. Lorenz, Carbon sequestration in soil. *Curr. Opin. Environ. Sustain.* **15**, 79–86 (2015).
3. C. Le Quéré, R. M. Andrew, P. Friedlingstein, S. Sitch, J. Pongratz, A. C. Manning, J. I. Korsbakken, G. P. Peters, J. G. Canadell, R. B. Jackson, T. A. Boden, P. P. Tans, O. D. Andrews, V. K. Arora, D. C. E. Bakker, L. Barbero, M. Becker, R. A. Betts, L. Bopp, F. Chevallier, L. P. Chini, P. Ciais, C. E. Cosca, J. Cross, K. Currie, T. Gasser, I. Harris, J. Hauck, V. Haverd, R. A. Houghton, C. W. Hunt, G. Hurtt, T. Ilyina, A. K. Jain, E. Kato, M. Kautz, R. F. Keeling, K. Klein Goldewijk, A. Körtzinger, P. Landschützer, N. Lefèvre, A. Lenton, S. Lienert, I. Lima, D. Lombardozzi, N. Metz, F. Miller, P. M. S. Monteiro, D. R. Munro, J. E. M. S. Nabel, S.-i. Nakaoka, Y. Nojiri, X. A. Padin, A. Pregon, B. Pfeil, D. Pierrot, B. Poulter, G. Rehder, J. Reimer, C. Rödenbeck, J. Schwinger, R. Séférian, I. Skjelvan, B. D. Stocker, H. Tian, B. Tilbrook, F. N. Tubiello, I. T. van der Laan-Luijkx, G. R. van der Werf, S. van Heuven, N. Viovy, N. Vuichard, A. P. Walker, A. J. Watson, A. J. Wiltshire, S. Zaehle, D. Zhu, Global Carbon Budget 2017. *Earth Syst. Sci. Data* **10**, 405–448 (2018).
4. W. de Vries, Soil carbon 4 per mille: a good initiative but let's manage not only the soil but also the expectations – Comment on Minasny et al. (2017) *Geoderma* 292: 59–86. *Geoderma* **292**, 59–86 (2017).
5. B. Minasny, B. P. Malone, A. B. McBratney, D. A. Angers, D. Arrouays, A. Chambers, V. Chaplot, Z.-S. Chen, K. Cheng, B. S. Das, D. J. Field, A. Gimona, C. B. Hedley, S. Young Hong, B. Mandal, B. P. Marchant, M. Martin, B. G. McConkey, V. L. Mulder, S. O'Rourke, A. C. Richer-de-Forges, I. Odeh, J. Padarian, K. Paustian, G. Pan, L. Poggio, I. Savin, V.

- Stolbovoy, U. Stockmann, Y. Sulaeman, C.-C. Tsui, T.-G. Vågen, B. van Wesemael, L. Winowiecki, Soil carbon 4 per mille, *Geoderma* **292**, 59–86 (2017).
6. K. Saffih-Hdadia, B. Mary, Modeling consequences of straw residues export on soil organic carbon. *Soil Biol. Biochem.* **40**, 594–607 (2008).
 7. R. L. Lemke, A. J. VandenBygaart, C. A. Campbell, G. P. Lafond, B. Grant, Crop residue removal and fertilizer N: Effects on soil organic carbon in a long-term crop rotation experiment on a Udic Boroll. *Agric. Ecosys. Environ.* **135**, 42–51 (2010).
 8. D. S. Powelson, A. Bhogal, B. J. Chambers, K. Coleman, A. J. Macdonald, K. W. T. Goulding, A. P. Whitmore, The potential to increase soil carbon stocks through reduced tillage or organic material additions in England and Wales: A case study. *Agric., Ecosys. Environ.* **146**, 23–33 (2012).
 9. T. Lehtinen, N. Schlatter, A. Baumgarten, L. Bechini, J. Krüger, C. Grignani, L. Zavattaro, C. Costamagna, H. Spiegel, Effect of crop residue incorporation on soil organic carbon and greenhouse gas emissions in European agricultural soils. *Soil Use Manage.* **30**, 524–538 (2014).
 10. S. Liu, D. Huang, A. Chen, W. Wei, P. C. Brookes, Y. Li, J. Wu. Differential responses of crop yields and soil organic carbon stock to fertilization and rice straw incorporation in three cropping systems in the subtropics. *Agric. Ecosys. Environ.* **184**, 51–58 (2014).
 11. C. Poeplau, L. Reiter, A. Berti, T. Kätterer, Qualitative and quantitative response of soil organic carbon to 40 years of crop residue incorporation under contrasting nitrogen fertilisation regimes. *Soil Res.* **55**, 1–9 (2017).
 12. K. Fujisaki, T. Chevallier, L. Chapuis-Lardy, A. Albrecht, T. Razafimbelo, D. Masse, Y. B. Ndoure, J.-L. Chotte, Soil carbon stock changes in tropical croplands are mainly driven by carbon inputs: A synthesis. *Agric. Ecosys. Environ.* **259**, 147–158 (2018).
 13. X. Han, C. Xu, J. A. J. Dungait, R. Bol, X. Wang, W. Wu, F. Meng, Straw incorporation increases crop yield and soil organic carbon sequestration but varies under different natural conditions and farming practices in China: a system analysis. *Biogeosciences* **15**, 1933–1946 (2018).
 14. C. Chenu, D. A. Angers, P. Barré, D. Derrien, D. Arrouays, J. Balesdent, Increasing organic stocks in agricultural soils: Knowledge gaps and potential innovations. *Soil Till. Res.* <https://doi.org/10.1016/j.still.2018.04.011> (2018).
 15. J. Hassink, The capacity of soils to preserve organic C and N by their association with clay and silt particles. *Plant Soil* **191**, 77–87 (1997).
 16. C. E. Stewart, K. Paustian, R. T. Conant, A. F. Plante, J. Six, Soil carbon saturation: concept, evidence and evaluation. *Biogeochemistry* **86**, 19–31 (2007).
 17. Y. Kuzyakov, J. K. Friedel, K. Stahr, Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biol. Biochem.* **32**, 1485–1498 (2000).
 18. B. Guenet, M. Danger, L. Abbadie, G. Lacroix, Priming effect: bridging the gap between terrestrial and aquatic ecology. *Ecology* **91**, 2850–2861 (2010).
 19. S. R. A. Collins, N. Wellner, I. M. Bordonado, A. L. Harper, C. N. Miller, I. Bancroft, K. W. Waldron, Variation in the chemical composition of wheat straw: the role of tissue ratio and composition. *Biotechnol. biofuels* **7**, 121–134 (2014).

20. M. E. Himmel, S.-Y. Ding, D. K. Johnson, W. S. Adney, M. R. Nimlos, J. W. Brady, T. D. Foust, Biomass recalcitrance: engineering plants and enzymes for biofuels production. *Science* **315**, 804–807 (2007).
21. S. G. Grandy, J. C. Neff, Molecular C dynamics downstream: The biochemical decomposition sequence and its impact on soil organic matter structure and function. *Sci. Tot. Env.* **404**, 297–307 (2008).
22. A. Miltner, P. Bombach, B. Schmidt-Brücken, M. Kästner, SOM genesis: microbial biomass as a significant source. *Biogeochemistry* **111**, 41–55 (2012).
23. R. J. Haynes, R. Naidu, Influence of lime, fertilizer and manure applications on soil organic matter content and soil physical conditions: a review. *Nutr. Cycl. Agroecosys.* **51**, 123–137, (1998).
24. S. Chen, Y. Wang, Z. Hu, H. Gao, CO₂ emissions from a forest soil as influenced by amendments of different crop straws: Implications for priming effects. *Catena* **131**, 56–63 (2015).
25. E. Liu, J. Wang, Y. Zhang, D. A. Angers, C. Yan, T. Oweis, W. He, Q. Liu, B. Chen, Priming effect of ¹³C-labelled wheat straw in no-tillage soil under drying and wetting cycles in the Loess Plateau of China. *Sci. Rep.* **5**, 13826 (2015).
26. S. Fontaine, S. Barot, P. Barré, N. Bdioui, B. Mary, C. Rumpel, Stability of organic carbon in deep soil layers controlled by fresh carbon supply. *Nature* **450**, 277–280 (2007).
27. T. Shahzad, M. Imtiaz Rashid, V. Maire, S. Barot, N. Perveen, G. Alvarez, C. Mougin, S. Fontaine, Root penetration in deep soil layers stimulates mineralization of millennia-old organic carbon. *Soil Biology and Biochemistry* **124**, 150-160 (2018).
28. L. Reijnders, Ethanol production from crop residues and soil organic carbon. *Resour. Conserv. Recycl.* **52**, 653–658 (2008).
29. C. Whittaker, A. L. Borrion, L. Newnes, M. McManus, The renewable energy directive and cereal residues. *Appl. Energy* **122**, 207–215 (2014).
30. D. S. Powlson, A. B. Riche, K. Coleman, M. J. Glendining, A. P. Whitmore, Carbon sequestration in European soils through straw incorporation: Limitations and alternatives. *Waste Manage.* **28**, 741–746 (2008).
31. R. Lal, World crop residues production and implications of its use as a biofuel. *Environ. Int.* **31**, 575– 584 (2005).
32. J. M. F. Johnson, D. Reicosky, B. Sharratt, M. Lindstrom, W. Voorhees, L. Carpenter-Boggs, Characterization of soil amended with the by-Product of corn stover fermentation. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **68**, 139–147 (2004).
33. R. Lal, Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma* **123**, 1 –22 (2004).
34. P. Smith, D. Martino, C. ZuCong, D. Gwary, H. Janzen, P. Kumar, B. McCarl, S. Ogle, F. O'Mara, C. Rice, B. Scholes, O., Sirotenko, M. Howden, T. McAllister, P. GenXing, V. Romanenkov, U. Schneider, S. Towprayoon, M. Wattenbach, J. Smith, Greenhouse gas mitigation in agriculture. *Philos. Trans. R. Soc. B* **363**, 789–813 (2008).
35. B. Guenet, M. Camino-Serrano, P. Ciais, M. Tifafi, F. Maignan, J. L. Soong, I. A. Janssens, Impact of priming on global soil carbon stocks. *Glog Change Biol.* **24**, 1873–1883 (2018).

3.2. Temperature and soil management effects on carbon fluxes and priming effect intensity

L'objectif initial de cette expérimentation étant de répondre, entre autres, aux problématiques de généricité du PE en système agricole et forestier d'une part, et à celles de certains changements globaux, à savoir changement climatique et pratiques de fertilisation. Le design expérimental (Fig. T13) comprend donc un sol forestier et un sol agricole qui ont chacun reçu soit un apport de OM représentatif de leur écosystème d'origine (paille sur sol agricole et feuille d'arbre sur sol forestier), soit un apport correspondant au système opposé (paille sur sol forestier et feuille d'arbre sur sol agricole). Malheureusement, un problème d'isotopie (détaillé plus loin) fut révélé suite à l'acquisition des données au spectromètre de masse, compromettant par là-même l'utilisation de tous les traitements où les résidus de feuilles d'arbre ont été apportés, soit 16 traitements sur 40 représentant 64 échantillons sur 160.

Temperature and soil management effects on carbon fluxes and priming effect intensity

Raphaël Guttières^{1*}, Naoise Nunan², Xavier Raynaud¹, Gérard Lacroix^{2,3}, Sébatien Barot⁴, Pierre Barré⁵, Cyrille Girardin⁵, Bertrand Guenet⁶, Jean-Christophe Lata¹, Luc Abbadie¹

[1] Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, INRA, IRD, Paris Diderot Univ Paris 07, UPEC, Institut d'Ecologie et des Sciences de l'Environnement – Paris (iEES-Paris), 7 quai St Bernard, F-75252 Paris, France

[2] Laboratoire des Sciences du Climat et de l'Environnement, LSCE/IPSL, CEA-CNRS- UVSQ, Université Paris-Saclay, F-91191 Gif-sur-Yvette, France

[3] CNRS, PSL Research University, Laboratoire de Géologie de l'ENS, 24 rue Lhomond, 75231 Paris cedex 05, France.

[4] IRD, Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, INRA, Paris Diderot Univ Paris 07, UPEC, Institut d'Ecologie et des Sciences de l'Environnement – Paris (iEES-Paris), 7 quai St Bernard, F-75252 Paris, France.

[5] INRA, UMR Ecosys, Campus AgroParisTech, Bât. EGER, F- 78850 Thiverval-Grignon (France)

[6] CNRS, Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, INRA, IRD, Paris Diderot Univ Paris 07, UPEC, Institut d'Ecologie et des Sciences de l'Environnement – Paris (iEES-Paris), 7 quai St Bernard, F-75252 Paris, France.

[7] CNRS, UMS 3194 (ENS, CNRS), CEREEP – Ecotron IleDeFrance, Ecole Normale Supérieure, 78 rue du Château, 77140 St-Pierre-lès-Nemours, France.

* Correspondence to: R Guttières (phd.rguttieres@gmail.com)

Primary Research Article

Keywords: Priming effect; global change; agricultural practices; organic matter quality; crop vs. forest soils; 4 per 1000; nutrient addition

Abstract

Soil is a much larger carbon reservoir than vegetation and atmosphere. Any change in the intensity and sign of CO₂ flux between soil and atmosphere is expected to have a significant impact on climate. The net emission of CO₂ by soils depends on two antagonistic processes: the persistence of dead plant matter coming from primary productivity and the mineralization of soil organic matter. These two processes have long been considered as independent. However, they are partly interdependent. Their interaction is known as the so-called "priming effect", i.e. the stimulation of the mineralization of stable soil organic matter by more labile fresh organic matter.

The response of priming effect to climate change is still unclear. Documenting this response is of crucial importance for predicting long term dynamics of ecosystems and climate change, and for managing carbon cycle in order to slow down the atmospheric CO₂ increase. Here we have tested the effects on priming effect of temperature, nutrient availability, energy content of added organic matter, land use and interactions.

Our results suggest that the energy content of the recent dead plant debris (wheat straw, fresh or pre-decomposed) is the first determinant of the intensity of priming effect, far ahead temperature and nutrients, by inducing up to 800% more CO₂ emission with fresh wheat straw addition in fresh state than pre-decomposed one. From 15 to 20°C, temperature had a very strong impact (increase by 38%) on basal soil organic matter mineralization but not on priming effect. Interactions between energy content of the supplied plant debris and the other factors showed that the agricultural soil is more responsive to all the factors tested than the forest soil, confirming the large impact of global change on the land use and management.

Through the "4 per 1000" initiative, it has been very recently demonstrated that priming effect could have a noticeable impact on soil carbon sequestration. We have shown in our study that the intensity of priming effect could be more dependent on land use and plant residue management than on other drivers of global change, particularly temperature and nutrients. There is an urgent need to assess the robustness of our results by testing other soil types and plant debris for a better integration of priming effect in models and for identifying alternative land carbon management strategies for climate change mitigation.

Introduction

One of today's major scientific challenges is to better understand the biological mechanisms regulating carbon (C) fluxes between the soil and the atmosphere and to determine how these fluxes impact climate change through climate-ecosystem feedback loops (Bardgett et al. 2008; Heimann & Reichstein 2008). Soils are the largest reservoir of terrestrial organic C (OC): it has been estimated to 615 Gt C in the top 0.2 m soil layer and to 2,344 Gt C in the first 3 meters (Jobbágy & Jackson 2000). The annual flux of C-CO₂ from the soil to the atmosphere is approximately 60 Gt, more than 6 times the 9 Gt C emitted anthropogenically (Stockmann et al. 2013). Therefore, even slight modifications of the C fluxes between soil and atmosphere may have a substantial impact on the future climate (Minasny et al. 2017). A better understanding of the mechanisms and interactions underlying these fluxes is therefore essential.

Feedbacks between soil and climate have been identified as the main uncertainty in Earth system models (ESMs) (He et al. 2016; Friedlínstein et al. 2006). ESMs simulate the removal of CO₂ from the atmosphere by the land surface *via* the photosynthesis, and the increases in atmospheric CO₂ concentrations *via* the respiratory activity of living organisms including plants and soil. Nevertheless, several feedbacks between these two fluxes are not represented in ESMs (Heimann & Reichstein 2008) whereas, it is now widely acknowledged that these two processes are intimately linked and that their interactions can have significant consequences for the C cycle (Guenet et al. 2018; Luo et al. 2016; Schmidt et al. 2011). One of the most significant potential mechanisms leading to such interaction is the stimulation of soil organic matter (SOM) mineralisation by microorganisms after the addition of fresh organic matter (FOM), known as the priming effect (PE) (Bingeman 1953; Löhnis 1926).

Even though the addition of FOM does not always result in a PE (see the concept of “negative priming effect”, Kuzyakov et al. 2000), the most frequently reported response is the acceleration of SOM mineralisation, sometimes with a rate up to 400% (Fontaine et al. 2004; Fontaine et al. 2011; Shahzad et al. 2012; Tian et al. 2016). The priming effect is likely a universal phenomenon that could affect significantly the C accumulation ability of soils in very different contexts. The CO₂ fertilisation effect (*i.e.* the increase in photosynthesis due to

the increase in atmospheric CO₂ concentration), for example, could lead to a weaker gain of soil C than expected or even to a net loss of soil organic C (SOC) stocks (Dijkstra et al. 2013; Chemidlin Prévost-Bouré et al. 2010). Much recent interest has also been shown in stabilizing atmospheric CO₂ levels through C sequestration, with particular attention being paid to C sequestration in soil, as illustrated by the international 4 per 1000 initiative (Minasny et al. 2017). As the management practices designed to increase SOC stocks are generally based on an increase of C inputs to the soil, the PE may reduce the impact of such practices and make the yearly SOC stock increase targeted by the 4 per 1000 difficult to achieve (Baveye et al. 2018). Indeed, global scale models in which PE is represented diverge considerably in their predictions of soil C stocks from those that do not include PE (Guenet et al. 2018).

The PE has been studied for many years, but its underlying mechanisms are still not fully understood (Blagodatskaya & Kuzyakov 2008; Mason-Jones et al. 2018; Liu et al. 2018). This lack of a clear mechanistic understanding means that it is difficult to predict the occurrence or the extent to which the PE may affect soil C dynamics under different conditions, particularly those expected in the context of global change or changes in soil management or agricultural practices. For example, the effect of the expected rising temperatures on the PE is still unclear, as both positive (Li et al. 2017; Thiessen et al. 2013; Yanni et al. 2017), neutral (Ghee et al. 2013) or negative (Frøseth & Bleken 2015; Yanni et al. 2017) PE responses have been found. The stoichiometry of the plant-soil-microorganism system is also known to be an important determinant of the occurrence and the extent of the PE (Chen et al. 2014): generally, the higher the stoichiometric imbalance between the availability of mineral nutrients and the microbial requirements in mineral nutrients, the higher the PE (Chen et al. 2014; Kuzyakov, Friedel, et al. 2000; Fontaine et al. 2011). It is hypothesized that the energy input induced by the addition of organic matter (OM) stimulates the SOM “mining” activity of microbial communities, allowing them to acquire more mineral nutrients by the consumption of SOM when their availability in the soil solution is low (Fontaine et al. 2004).

The energy status of the added OM can also affect the occurrence and the intensity of the PE. OM in which the energy is readily available to soil microbial communities tends to stimulate the PE to a greater extent than OM in which energy is less available (Lonardo et al. 2017; Wang et al., 2015). We therefore suggest that it may be more beneficial to add C to

soils through pre-decomposed (depleted in energy-rich compounds) OM in which there is an adequate mineral nutrient supply, in order to minimize PE and therefore the decay of old persistent SOC. In the cereal cropping context, this may be achievable by simply allowing straw to decompose at the soil surface, post-harvest, before its incorporation into the soil, rather than incorporating it fresh through tillage (Liu et al. 2014; Chen et al. 2015) or exporting it. This, however, has yet to be verified. Furthermore, the chemical composition of the added pre-decomposed or fresh organic matter should interact with temperature and the availability of mineral nutrients to determine quantitatively the amount of primed C. However, virtually nothing is known about such interactions.

In this study, we aim at quantifying the PE after the addition of pre-decomposed or fresh OM, at two temperatures and two nutrient levels in two soils with different native organic matter contents to assess the robustness of the results. The ultimate objective was to determine whether a simple change in management practices could substantially alter soil C dynamics in crop lands and how such a putative change might interact with different temperatures and nutrient levels, in a global change context. We predict that the intensity of the PE would be higher (1) in the soils that receive fresh OM, (2) at higher temperatures, (3) without the addition of mineral nutrients.

Materials & methods

Study area and soil description.

Soil samples were collected from an agricultural field (A) and an adjacent forest (F) in Thiverval-Grignon (48°84'29081 N, 1°93'46532 E, AgroParisTech domain, France). The site was chosen because the two land managements (cropland and forest) were on the same soil type and only distant from each other by *ca.* 50 m. This was done in order to minimize confounding effects such as soil texture and climate, and to better focus on the effects of the quality and quantity of the soil organic matter (SOM). The soil was a silty loam (clay:silt:sand ratio was 0.22:0.70:0.08) and classified as Luvisol (FAO, 1989) (Barré et al. 2017). The F site, located within the park of the AgroParisTech domain, is dominated by oak, hornbeam and ash and was established in 1820. The A site, located in the same domain, has been under conventional management for several decades and had been used for cropping for at least two centuries. Cropland management was characterized by rotations based on cereals, an

annual tillage to 30 cm depth, mineral fertilization and exports of cereal straw (Barré et al. 2017). The mean annual temperature was 10.7°C and the mean annual rainfall was 649 mm.

Soils samples from the two sites were taken to a depth of 15 cm after removal of the litter layer. Fresh soils were immediately transported to the laboratory and the remaining organic residues and stones were carefully removed by hand. Samples were then dried at room temperature, sieved through a 2 mm mesh sieve and stored at ambient temperature, in the dark (Lauber et al. 2010). Their chemical and physical properties are given in Table 1.

Although both soils were of the same type, they differed in several aspects: the pH of the agricultural soil was close to neutral, whereas the forest soil was acidic (Tab. 1). The agricultural soil also contained half as much C content as the forest soil, but with almost the same C isotopic signature (Tab. 1).

Table 1. Chemical and physical characteristics of soils and plant residues.

Properties	Soil		Wheat straw	
	A	F	Fresh	Decomposed
Total OC (g kg ⁻¹)	12.94	28.34	398.2	388.5
Total N (g kg ⁻¹)	1.42	2.5	11.0	34.9
C:N ratio	9.13	11.33	36.44	11.15
Total P (g kg ⁻¹)	0.062	0.01	1.45	6.99
δ ¹³ C (‰)	-25.2	-26.4	5871.5	5343.6
WHC* (%)	39.8	38.2	—	—
Bulk Density (g cm ⁻³)	1.25	1.15	—	—
pH	7.5	5.5	—	—

*Water holding capacity

Plant material & pre-decomposition.

We used ¹³C-labelled fresh wheat straw (δ¹³C = 5871.51‰, CEA of Cadarache). The chemical properties of this fresh organic matter (FOM) are given in Table 1. Half of this FOM was pre-decomposed in the laboratory. The straw was first dried at 30 °C for 10 days, and then finely milled (2 mm, Waring commercial® blender). The milled plant material was distributed in 12 litterbags (mesh size 35 µm), which was then placed on top of 600 g of soil A (dry weight equivalent) at 80% of the water holding capacity (WHC), itself in 4 polyethylene containers. The containers were covered with Parafilm to minimize evaporation without affecting other

gas exchanges (Wang et al. 2015) (and thus prevent CO₂ accumulation) and placed in incubation chambers at 25°C for 3 months. The location of the containers in the incubation chambers was randomised weekly.

The small mesh size of the litterbags allowed the colonisation of bacterial and fungal decomposer communities (Johnson et al. 2002) and prevented the uncontrolled mixing of the plant material with the soil for an easy recovery at the end of the pre-decomposition step. All litterbags were weighed before and at the end of the incubation in order to determine mass loss. At the end of this pre-decomposition step, the pre-decomposed wheat straw (thereafter called DeOM) had lost 71.7% of its initial mass, 72.4% of initial C and had reached a $\delta^{13}\text{C}$ of 5343.62‰ (Tab. 1). The DeOM C:N ratio had also decreased 3 fold compared to FOM C:N.

Experimental design.

The experimental design was fully factorial with four factors, three of which had two levels and one of which had three levels. There were two temperature treatments (15 or 20°C), two soils (A or F), 2 levels of nutrient addition (with or without) and 3 types of OM addition (fresh (FOM) or pre-decomposed (DeOM) wheat straw and a control treatment (CTL) without straw). The experimental units consisted of 15 g (dry weight equivalent) of soil A or F in 120 ml hermetically sealed glass vials at 80% water holding capacity. Each treatment combination was replicated 4 times. This led to 24 different treatments and 96 vials.

In treatments with nutrient addition, a mineral nutrient solution (NH₄NO₃, KH₂PO₄, dissolved into deionized water) was added to ensure that soil microbial communities were not nutrient limited, to give final total (soil + added OM) C:N and C:P ratios of at least 10:1 and 80:1, respectively (Fontaine et al. 2004) in all the soil + added OM systems, and to mimic fertilizer stoichiometry. An equivalent volume of distilled water was added in the treatment without nutrients.

Prior to the experiment, the soils were pre-incubated for 9 days at 15°C and 80% of WHC in order to avoid the flush of mineralisation (Birch effect) that is known to occur when a dried soil is rewetted (Birch 1958). Subsequently, 50 mgC.gC_{soil}⁻¹ of ¹³C-labelled organic matter

(FOM or DeOM) was added and thoroughly mixed in order to distribute the plant material homogeneously within the soil. Control soils without OM addition were also mixed to apply the same physical disturbance. The head-space of each microcosm was flushed with CO₂-free air and immediately sealed with hermetic septum (Butyl/PTFE, Joint Pharma-Fix). The microcosms were then placed at either 15 or 20°C and incubated in the dark for 101 days. Throughout the incubation, samples were regularly weighed to control for water losses and water content was readjusted when necessary.

CO₂ and δ¹³C measurements.

The concentration of CO₂ (ppmv) in the microcosms' headspace and δ¹³C-CO₂ (‰) were determined on days 1, 3, 7, 14, 24, 44, 71 and 101 of the incubation. The CO₂ concentrations were measured using a micro gas chromatograph (Agilent, 490-PRO Micro GC System). A second gas sample was taken and stored in 12 ml glass vacuum vials for δ¹³C measurement using a mass spectrometer (FISONS OPTIMA Isotope Ratio Mass Spectrometer, coupled to an ISOCHROM-GC) at a later date. After each CO₂ sampling, flasks were flushed with CO₂-free air. This air was led through a bottle of distilled water to moisten it and to prevent soil drying. The septum was renewed each time to prevent the risks of air leakage.

Partitioning of CO₂-C from added OM and SOM sources and PE calculation.

The origin of the CO₂ measured in the headspace of the microcosms was assessed using the following equations ([Mary et al. 1992](#)):

$$C_{SOM} = C_{Total} \times (\delta_{Total} - \delta_{adOM}) / (\delta_{CTL} - \delta_{adOM})$$

$$C_{adOM} = C_{Total} - C_{SOM}$$

where C_{Total} is the total CO₂-C emission measured from incubation vials under different treatments, C_{SOM} is the SOM-derived CO₂-C emissions, C_{adOM} is the added OM-derived CO₂-C emissions, and δ correspond to the measured δ¹³C in the respective compartment (where CTL correspond to control treatment). We assumed that fractionation during the biodegradation processes was negligible ([Mary et al. 1992](#)).

PE was calculated as follows:

$$PE = C_{SOM} - C_{CTL}$$

where C_{CTL} is the SOM-derived CO_2 -C emission in the control treatment (which is equal to total CO_2 -C emission in CTL treatment).

Data analyses

Raw results per gram of soil (g_{soil}) were normalized per gram of soil carbon (gC_{soil}) and cumulated over the 101 days of incubation.

Statistical analyses were carried out using R version 3.4.1 (R Core Team 2017). Normality and homogeneity of variance across treatments were tested prior to analyses and no data transformation was necessary. Data are presented as the means of four replicates with standard errors. Analyses of variance (ANOVA) were used to examine differences in cumulative CO_2 respiration (including total CO_2 , SOM-derived CO_2 and added OM-derived CO_2) and PE (including relative PE and cumulative PE) at the end of experimentation, among treatments. Tukey's HSD post hoc tests were used to identify statistically significant differences among treatments.

Results

Total mineralization

The total CO_2 produced in each treatment during the 101 days of the incubation are shown in Figure 1 (a & b). In both soils, Tukey's test (Fig 1 a & b) showed that C mineralisation was the highest in the FOM treatment, followed by the DeOM and control treatments. The input of straw always induced a higher mineralization compared to control (+51% on average) (Tab. 2) for both pre-decomposed and fresh modalities, but only +18% with DeOM vs. +85% with the FOM (Fig. 1 a & b). The highest temperature (*i.e.* 20°C) increased by 34% on average the amount of released CO_2 , and the addition of mineral nutrients decreased it by *ca.* -8% (Fig 1 a & b). The patterns were similar in both soils, though the differences were less marked in the forest soil: there were significant differences among nearly all (11/12) treatment combinations in soil A but only half the treatment combinations showed significant differences in soil F (See letters from Tukey test on the figure 1 a & b).

Table 2. Results of ANOVA to evaluate the impact of the quality of added organic matter (adOM), mineral nutrients addition (NPK) and temperature rise on 5°C (T°C) with F-values and significance stars for the two land-uses considered together. (NS = Not statistically Significant).

	Total C emission		FOM-derived C		SOM-derived C		PE	
	F-value	p-value	F-value	p-value	F-value	p-value	F-value	p-value
adOM	1850.4	***	1837.4	***	128.4	***	98.5	***
T°C	982.7	***	14.2	***	2554.2	***	0.4	NS
NPK	55.9	***	15.4	***	65.3	***	6.7	*
Soil	350.4	***	25.1	***	705.5	***	26.2	***
adOM : T°C	5.0	**	1.5	NS	2.1	NS	2.8	.
adOM : NPK	5.3	**	2.0	NS	1.7	NS	0.1	NS
adOM : Soil	32.3	***	19.9	***	16.9	***	14.6	***
T°C : NPK	0.1	NS	0.2	NS	0.0	NS	2.0	NS
T°C : Soil	30.7	***	3.2	.	55.5	***	5.5	*
NP : Soil	0.4	NS	1.5	NS	7.1	**	0.1	NS
adOM : T°C : NPK	0.4	NS	—	—	0.7	NS	0.3	NS
adOM : T°C : Soil	1.8	NS	—	—	1.4	NS	0.1	NS
adOM : NPK : Soil	4.7	*	—	—	3.7	*	5.1	*
T°C : NPK : Soil	1.7	NS	—	—	3.4	.	0.4	NS

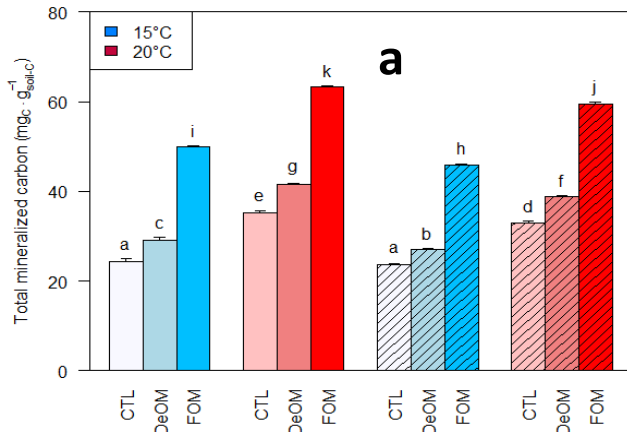
Added OM derived-CO₂

The mineralization of added FOM was 2 to 7 times higher than that of DeOM, depending on the treatment combination (Fig. 1 c & d). Up to 95% of DeOM-carbon was still present in the soils at the end of the incubation, whereas less than 55% of FOM-carbon remained in soil (Fig. 1 c & d). There was a significant temperature effect on the mineralisation rates of added OM but also a significant interaction between soil and temperature (Tab. 2). Indeed, post-hoc tests suggest that added OM mineralization was quite sensitive to temperature when added to soil A, but less to soil F (Fig. 1 c & d). Nutrient addition did not affect the mineralisation of added OM in either soil.

SOM derived-CO₂ – basal respiration

In contrast to the mineralisation of the straw residues, the main factor affecting basal SOM derived CO₂ emissions was temperature (Fig. 1 e & f). On average, there was a 38% increase in basal SOM-mineralization at 20°C compared to 15°C (Fig. 1 e & f). Furthermore, the addition of DeOM had no significant effect on the basal respiration (*i.e.* SOM derived-CO₂), indicating that there was no PE in this case. In contrast, a statistically significant increase in basal SOM-derived respiration (+12% relative to controls) was found in FOM treatments. The addition of mineral nutrients had no significant effect (Fig. 1 e & f).

Agricultural Soil



Forest Soil

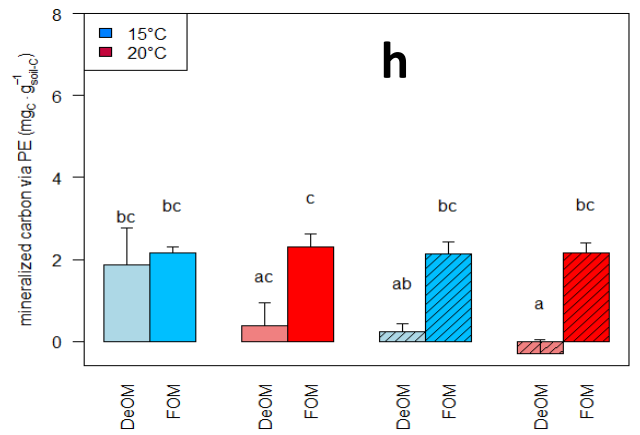
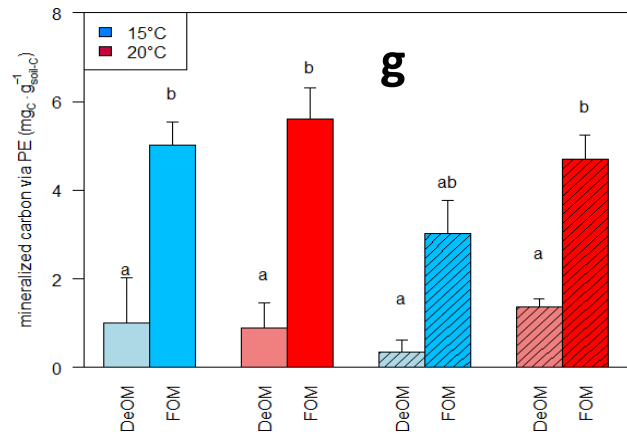
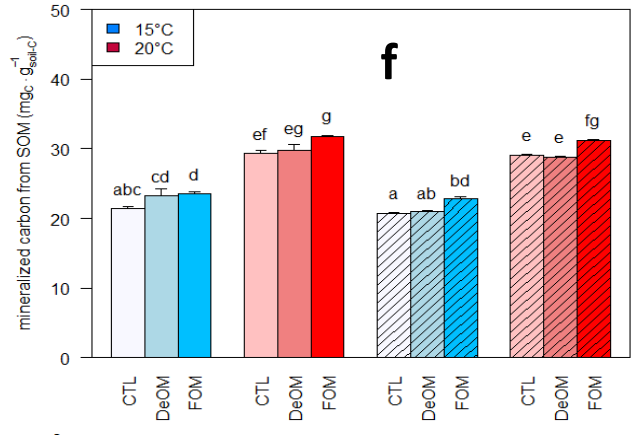
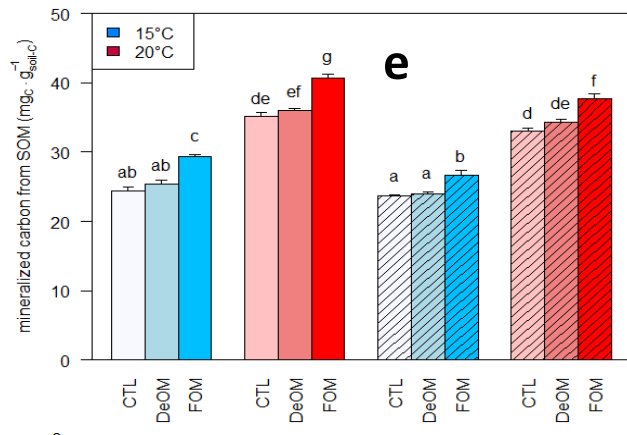
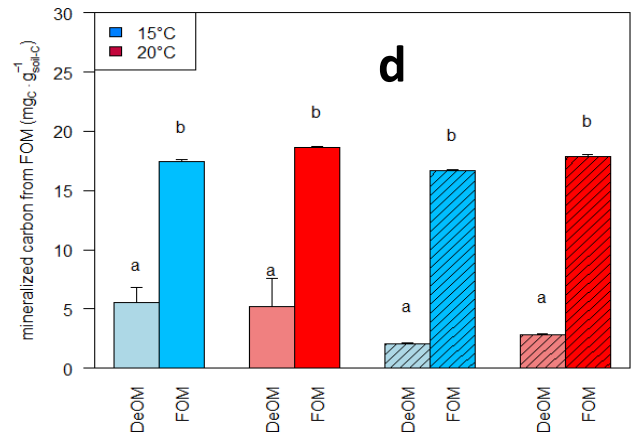
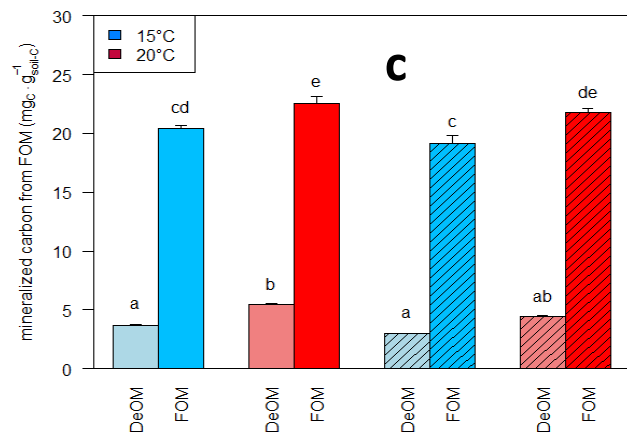
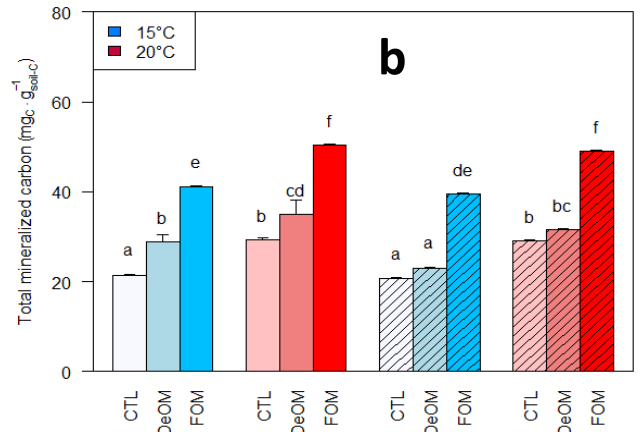


Fig. 1. Carbon emissions and PE, normalized from grams of soil to grams of soil-C. Letters **a & b** for Total mineralization, **c & d** for FOM-derived mineralization, **e & f** for SOM-derived mineralization and **g & h** for PE, on soil A and F, respectively. Data are means of 4 replicates \pm SE. Blue & red bars correspond to 15 & 20°C treatment respectively, Hatched bars correspond to treatment with mineral nutrients addition. Letter above bars are from Tukey-test: bars with the same letter(s) are not significantly different ($P < 0.05$). Vertical scales are adapted for each C emissions category, but identical between soil A & F to facilitate the comparison (but letters from Tukey are not comparable between soils).

SOM derived-CO₂ – priming effect

The PE depended mainly on both the quality of OM addition and the land use (Fig 1 g & h). The maximum PE was induced by the addition of easily mineralizable compounds (FOM), which induced up to +834% higher mineralization of SOM compared to the addition of more recalcitrant compounds (DeOM) (Fig 1 g & h). There was no effect of the +5°C increase in temperature on PE intensity. Mineral nutrient addition weakly negatively impacted the PE (but significantly) on both soils (Fig 1 g & h) when we considered both soils together in the ANOVA (Tab. 2 and Fig 1 g & h).

The temporal evolution of the cumulative PE is illustrated in Figure 2. The PE profile over time depended on the quality of OM addition and the soil. There was little or no PE following the addition of DeOM, regardless of the soil. In soil A, the PE after the addition of FOM was relatively high and persisted throughout the duration of the incubation, whilst it was lower and reached a plateau after 7 days in soil F (Fig 2).

Interactions between treatments

Statistical analysis performed on the entire dataset (Tab. 2) revealed strong ($p < 0,001$) interactions, only between soil and other factors, as discussed below.

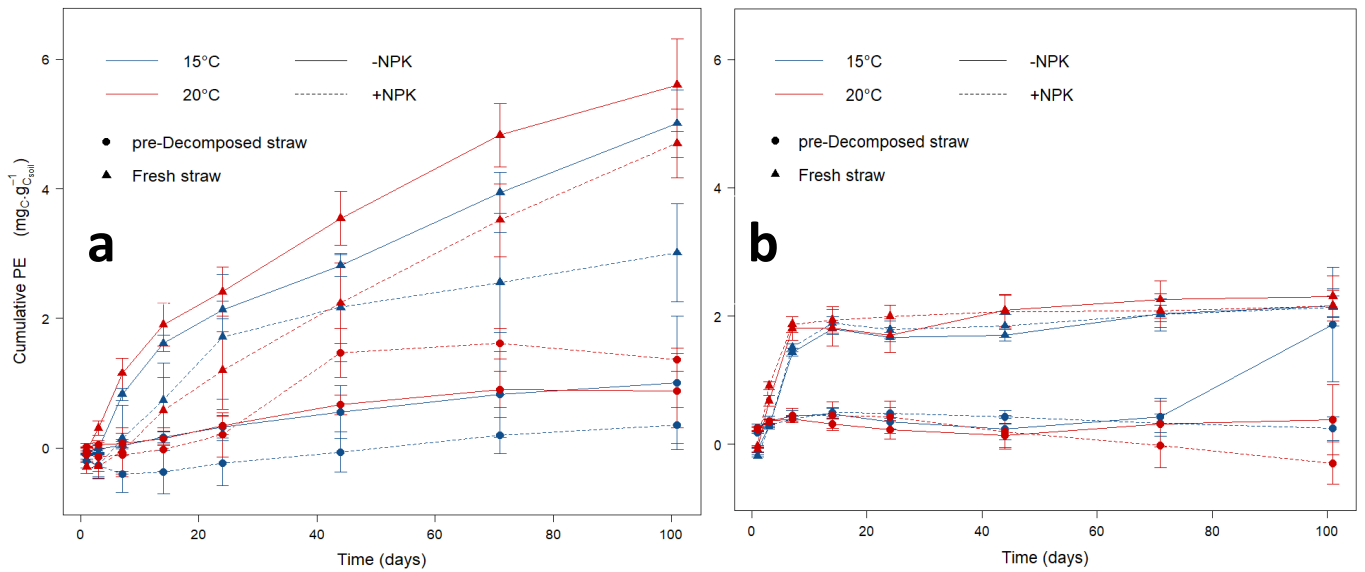


Fig. 2. Changes of cumulative priming effect (PE) for different straw residues (fresh or decomposed), temperature and nutrient treatments with the incubation time. Means \pm 1SD ($n = 4$) are shown. Letter **a** is for agricultural soil, and **b** for forest soil.

Discussion

Effect of the quality of added OM

Consistently with our hypothesis about the PE theory, the quality of the organic material brought has strongly impacted the mineralization of the different types of organic matter. First, once incorporated into the soil, the straw itself was mineralized 3 to 8 times more when it was fresh rather than pre-decomposed (Fig. 1 c & d), which reflects a higher availability to microbial decomposers of the energy it contained, *i.e.* a better degradability. In other words, this confirms that the pre-decomposition stage decreased the lability:recalcitrance ratio of the original plant material compounds. Obviously, this large difference in degradability affects total mineralization, but in addition to this, it also affected the mineralization of SOM, *i.e.* it affected PE. Indeed, by providing energy more easily accessible to soil microorganisms, fresh straw induced a higher mineralization of the SOM compared to that induced by pre-decomposed straw and control without input, particularly on the agricultural soil. As primarily found in the study of [the Chap 2 \(page 57 – 70 of the present thesis – Guttières et al 20••\)](#), the first hypothesis of this study – namely that the addition of fresh wheat straw would stimulate PE to a greater extent than the addition of

pre-decomposed wheat straw – was validated, regardless of the treatment combination. This underpins that an avenue for increasing soil C stocks in cultivated soils might be to add decomposed straw residues rather than incorporating them fresh. However, in view of the fact that > 70% of the C was lost prior to adding the pre-decomposed OM to the soils, the overall C balance may not be favourable if this C is lost entirely as gaseous form and not through dissolved organic matter leaching into the soils. Thus, it is particularly beneficial of this gaseous emissions to improve the C balance using for instance anaerobic digestion of the residues with a recovery of the methane emitted (Whittaker et al. 2014; the Chap. 2, 53 – 66 of the present thesis – Guttières et al. 20XX). Nevertheless, it is important to note that even if all the C lost during the pre decomposition process was CO₂, this C was recently fixed in the contrary of the C primed which is older and may be stabilized for years (Fontaine et al. 2007).

The higher PE following the FOM input relative to the DeOM input is most likely associated with the stimulation of microbial activity due to the more readily available C and energy source in the FOM. It has been suggested that microbial activity in soil is often constrained by the large investment in enzymes that microbial communities must make in order to acquire nutrients and energy from heterogeneous soil organic matter (Moorhead & Sinsabaugh 2006; Fontaine et al. 2003; Chen et al. 2014) and that the addition of FOM provides the energy necessary to make such an investment (Fontaine et al. 2003; Blagodatskaya & Kuzyakov 2008; Kuzyakov, Friedel, et al. 2000). It should be noted that the PE was much lower in the forest soil, suggesting that microbial communities were less energy/C limited in this soil. This is at odds with the basal respiration data from both soils, which is higher per unit organic C in the agricultural soil (Fig. 1). Generally, the respiration per unit organic C is considered to be an indicator of the decomposability of the OM (Lomander et al. 1998). This suggests that the energy perspective alone cannot explain the differences in PEs observed.

The OM content of the forest soil was higher than that of the agricultural soil and several other studies have found the PE is negatively related to the OM content of soil (Paterson & Sim 2013a; Zimmerman et al. 2011). The reason for such relation is not clear but, as contact between decomposers, or their enzymes, and OM is a requirement for decomposition (Dignac et al. 2017), one possible explanation is that the average distance between OM and

decomposers is higher in soils with low OM contents, and that the energy provided by the addition of FOM allows microbial communities to explore (*e.g.* through fungal growth) the soil volume to a greater extent, which increase their access to OM and the subsequent PE (Salomé et al. 2010).

Temperature effect

The temperature is known to be one of the principal controllers of decomposition process (Curiel Yuste et al. 2007; Gregorich et al. 2016). Here, the increase of 5°C led to a strong increase in the total carbon (SOM + added OM) mineralization rate. More specifically, the isotopic labelling clearly showed that the mineralization of the C contained in the SOM increased with the increase in temperature. We noted a tremendous average increase of 40% in carbon emissions from SOM between 15 and 20°C during these 101 days. This is consistent with the Arrhenius law (Arrhenius, 1889) that implies that the temperature sensitivity of decomposition increases with the stability of organic compounds (Lefèvre et al. 2014), due to higher activation energies for stabilised substrates than for labile ones (Lützow & Kögel-knabner 2009). This result is in accordance with many other incubation studies (Kirschbaum 1995, 2006; Craine et al. 2010; Lefèvre et al. 2014; Lützow & Kögel-knabner 2009; Davidson & Janssens 2006; Conant et al. 2008, 2011). It confirms that a positive feedback to global warming could occur through this mechanism. This feedback could be compensated by the effect of the increase in T°C and CO₂ on primary production, but probably only in a partial way (Lloyd & Taylor 1994; Schimel et al. 1994; Kirschbaum 2006; Davidson & Janssens 2006; Fierer et al. 2005; Heimann & Reichstein 2008; Vestergård et al. 2016).

Notwithstanding this high temperature sensitivity of SOM mineralization, the magnitude of the PE here remained relatively unaffected by the increase in temperature. This result is in contrast to what was found in some studies (increase in PE with temperature, see Li et al. 2017; Thiessen et al. 2013; Yanni et al. 2017; decrease in PE with temperature, see Frøseth & Bleken 2015; Yanni et al. 2017). However, others have also found that temperature does not affect PE (Ghee et al. 2013) even during long-term warming experiment (Vestergård et al. 2016), but without deep mechanistic explanation. As PE is a stimulation of the decomposition of SOM that is relatively stable, an increase in PE with temperature could

indeed be expected, but it was not the case here. This could be probably due to the fact that the decomposition of the added OM was only slightly affected by temperature whereas the decomposition of SOM was highly affected (Fig 1 c, d, e & f). Indeed, still in accordance with Arrhenius equation, this increase of temperature from 15 to 20°C affected the mineralization of wheat straw residues (added OM, Fig.1 c & d) but in a very lesser extent and the DeOM seemed to be 3.3 times more sensitive than the fresh one. This result further tends to confirm the idea that our pre-decomposing phase made straw residues more biochemically recalcitrant. Indeed, the temperature sensitivity of mineralisation was quite similar for the DeOM and for the SOM (+44% & +38% respectively, between 15 and 20°C), while for the FOM it was *ca.* 4 times lower with only a +9.5% increase. However, although this difference in sensitivity of the two types of residues is very clear, this corresponds to a quantitatively similar increase in C emitted - but which remains very small compared to the effect on SOM. As a result, the release of energy from the two quality types of added OM was similar at both temperatures and was quantitatively very small relative to the mineralisation of SOM, which could lead to the absence of effect of temperature on PE in controlled conditions. Yet, temperature could have indirect impacts through the effect on soil water content (Miller & Johnson 1964; Cassman & Munns 1980; Linn & Doran 1984; Skopp et al. 1990; Weier et al. 1993; Rey et al. 2005; Sun et al. 2016; Cambarella 2005) and become therefore, most likely, ecologically significant.

Nutrient-addition effect

For the mineralization of all types of OM, the addition of mineral nutrients had significant effect but much lower than the effect of temperature and type of OM added. When it was statistically significant, it decreased PE in this study, as often found (Chen et al. 2014; Kuzyakov, Friedel, et al. 2000; Dimassi et al. 2014). The PE response to the availability of mineral nutrients could be explained by a reduction in the need of mineral nutrient mining within SOM for microbial communities. Here however, the addition of mineral nutrients also decreased the total mineralisation, the mineralisation of SOM and of the added OM, particularly in the agricultural soil (Fig 1). As suggested by Spohn et al. (2016), this may be due to changes in the intracellular partitioning of C within the microbial communities, with an increased C allocation to biomass and a decreased allocation to respiration when nutrients are readily available.

Interactions

This fully cross-factorial design with four factors allowed us to test simple effects as we previously discussed, but also and mostly the interactions between them. Surprisingly, from the ecological point of view, the land use was the only factor (*i.e.* soil) with which interactions have been established, no other significant interactions were found among factors. By the same, except for land use (discussed at the end of discussion), the impacts of the various global change factors tested here appear to simply add up, with no particular amplification or attenuation effect.

Soil effects & interactions

Agricultural and forest soils differ by several aspects such as OM type, microbial & fungal communities, dynamics of OM inputs and outputs, exposition to climatic & anthropic disturbances (Foley et al. 2005; Guo & Gifford 2002). This led to three main differences noticed here between soil responses: 1) all effects observed on the forest soil were very limited compared to the agricultural one; 2) the forest soil C concentration was 2 times higher than the agricultural soil while it is the reverse for the PE by g of soil C. In fact, we found that the PE was realized more efficiently on soil A than F: to over-mineralize 1 C unit from SOM via PE, 5.4 C units are needed to be mineralized from the added OM (FOM and DeOM) in soil A while 8.1 C units are needed in soil F. 3) Finally, the kinetics of PE induced by FOM addition had very different shapes (Fig. 2), with an early threshold reached after 7 days on soil F whereas it stayed relatively high and persisted throughout the duration of the incubation on soil A.

With the support of literature, we could hypothesise that the difference of behaviour between soil A and soil F is the result of a combination of factors such as pH (Walse et al. 1998; Hung & Trappe 1983; Bottner et al. 1998; Leifeld 2005), tannin content of SOM (Kraus et al. 2003), total organic C content (Paterson & Sim 2013b; Zimmerman et al. 2011), C contents in microbial biomass (Blagodatskaya & Kuzyakov 2008), evolution (by different selection pressures between soils), quality of SOM and bacteria/fungi ratio (Lonardo et al. 2017; Fontaine et al. 2011; Terrer et al. 2016). Among all these possibilities, the most influential could be related to the differences in C contained in the microbial biomass (C_{mic}) of the two soils. According to Blagodatskaya & Kuzyakov (2008), if our FOM-C input was

greater than the C_{mic} of soil A but less than or equal to C_{mic} of soil F, then this abrupt cessation of PE after 7 days on soil F could be the result of a simple apparent PE. In this case, the supplied FOM-C would only have served to renew the C_{mic} . This C_{mic} having the isotopic signature of the soil, the CO_2 resulting from its mineralization would be read as PE, but without being derived from the over-mineralization of the SOM.

Despite all the differences noticed between results obtained on these two soils, general mineralisation patterns were similar for the two soils and underpin a certain robustness of our results. Particularly, our main hypothesis was validated on both soils: the quality of the organic matter brought in the form of fresh or pre-decomposed straw residues led to very significant differences in the intensity of the induced PE. This further supports that the quality of added OM inducing the PE process is a major factor to take into account for SOC dynamics. In addition, these 2 soils are both Luvisol with *ca.* the same clay/silt/sand ratio, and initially only differ by their land-use, established about two centuries ago. This particularity allows us to notice that, at the end of these past 200 years, the agricultural soil has a 2.19 times lower SOC content than the forest soil - which could be considered here as the reference system. In other words, this means that, depending of the land-use (such as deforestation for farmland establishment) and agricultural practices (as input of highly degradable FOM), soils can become a significant source of CO_2 by the mineralisation of large amount of stable C (Guenet et al. 2012; Chen et al. 2015). Yet it also means that with better understandings and practices, this agricultural soil have the potential to store – at least – 2.19 times more C (Chenu et al. 2018), as its forest counterpart and neighbour.

To summarise, in the conditions of the present study, we were able to test the impacts of several factors and their combinations on the mineralization of different pools of organic matter and PE. The land use appeared to have strong interactions with all other factors, but surprisingly, no relevant interactions were noticed between the other factors, and this for all the mineralization of all OM pools (total, SOM, added OM and PE) (Tab. 2). Obviously, as only two soils were used in this study, these results could not be neither generalized nor considered as representative of all agricultural and forest soils functioning. Nonetheless, it suggests that the land use – and their associated plant residues management – is, among the

factors we tested here, the most influential factor for mineralization. Quality of OM, temperature and nutrients availability did not induce notable feedbacks on global changes through their interactions – under our laboratory conditions with controlled soil water content. However, the addition of fresh OM induced a large PE whereas the addition of pre-decomposed OM led to no significant effect, *i.e.* the quality of OM was the most determinant factor far ahead the temperature and nutrients availability. Consistent with the concept of PE, this suggests that the quality of the OM provided is a key element to consider with regard to the storage-loss dynamics of SOC, and so, of SOM. Furthermore, as suggested by the stable efficiency of the process within each soil, PE seemed to be very dependent on the bio-available C. While the increase in temperature strongly impacted the basal mineralization of the soils – which confirms the worrisome positive feedback on global warming, no significant effect was detected on PE itself. However, a sensitivity of PE to temperature was observed through the temperature sensitivity of the added OM mineralisation. In addition, the comparison of the two land-uses from 200 years allows us to imagine the potential of C re-stocking or de-stocking, depending on practices, for instance through initiative such as 4 per 1000, and by taking the PE into account.

Finally, in our study, the effect of land use through the management of crop residues appeared to induce the greatest impact on the PE, to the point of rendering the expected responses to the stoichiometry and temperature negligible. The level of easily available energy contained in amendments (*i.e.* OM quality) have to be highly monitored for the sustainability and crop production, in order to prevent C losses and optimise ecosystemic soil services, as long term C storage and fertility. Further studies are needed to assess the importance of the factors tested here under more realistic conditions – up to *in situ* field experiment, and also to test the response of PE with plant residues from other crop species and other pre-decomposition and composting methods, in order to assess the potential of this approach. These results show the importance of paying particular attention to these issues in our critical context of global change and lack of sustainability for agricultural practices.

Bibliography (voir en fin de document, [page 147](#))

3.3. Discussion supplémentaire concernant les différences observées en sol agricole et sol forestier

Ce troisième chapitre étant un manuscrit d'article destiné à la publication, je ne me suis pas permis l'émission d'hypothèses trop nombreuses et spéculatives concernant les différences notables observées entre le PE sur les deux sols. En effet, pour de multiples raisons, il ne m'a pas été possible de réaliser d'analyses complémentaires sur mon expérimentation pour répondre à la question suivante :

Pourquoi la minéralisation sur sol agricole est-elle supérieure à celle sur sol forestier, alors que ce dernier présente plus de deux fois plus de SOC ?

Par conséquent, ces hypothèses n'ont pu être étayées par des données propres au contexte spécifique de cette étude. Pour autant, un travail d'hypothèses et de recherches bibliographiques a été fait afin de dégager des pistes vers une compréhension, ainsi que pour orienter des analyses complémentaires qui pourront être réalisées ultérieurement, sur les échantillons conservés à -25°C, après le travail de thèse. Il me semble donc intéressant de présenter ici ce travail :

1. Pression de sélection – adaptation des milieux : l'hypothèse évolutive pourrait être que, en raison des caractéristiques de ces deux écosystèmes différents, une forte pression de sélection aurait pu sélectionner des communautés microbiennes du sol agricole plus efficaces pour produire du PE sur un sol pauvre en C et N. Ceci les rendant alors plus efficace à des apports d'énergie externe dont ils dépendent pour extraire les nutriments limitants contenus dans la SOM.

2. Ratio bactéries/ champignons – considérations spatiales : Grâce à leur système hyphes mycéliens, les champignons ont une meilleure capacité à explorer l'espace que les bactéries, et il est souvent rapporté dans la littérature que le ratio bactéries/champignons est en faveur des champignons dans les sols forestier. Or, pour les écosystèmes où la contribution des champignons à la décomposition de la matière organique est plus importante, comme c'est le cas dans les sols forestiers, il est probable que leur rôle dans la PE est également plus important ([Terrer et al., 2016](#)).

Inversement, [Lonardo et al. 2017](#) ont mesurés dans leur expérimentation de faibles nombres de copies d'ADN fongiques dans tous leurs traitements, leur suggérant ainsi que les champignons jouent un rôle mineur dans l'EP dans les sols arables alors utilisés pour leur étude. Dans ce contexte, il apparaît que les champignons pourraient être effectivement plus présents dans le sol forestier utilisé pour mon étude. Par conséquent, de part leur type de développement, il est probable qu'ils aient pu alloués une plus grande part du C récupéré de la SOM (via PE) dans leur biomasse, aboutissant ainsi à une minéralisation (i.e. émission de CO₂) inférieure, mais à une décomposition équivalente voire supérieure.

3. pH & PE : L'activité microbienne est fréquemment stimulée par un pH neutre ou basique ([Bottner et al 1998](#)) alors qu'au contraire les champignons tolèrent bien l'acidité, les conditions optimales pour leur croissance se situant entre pH 3,0 et 7,0 selon l'espèce et la méthode utilisée (e.g. [Hung & Trappe, 1983](#)). Cela pourrait être cohérent avec nos résultats où le pH du sol A et F étaient respectivement de 7,5 et 5,5. Ainsi, cette acidité du sol forestier aurait pu jouer sur le ratio bactéries/champignons en favorisant les champignons, d'où la forte activité de minéralisation qui y a été observée.

4. Les tanins, qui représentent une partie significative des réservoirs de carbone forestier, sont connus pour complexer les protéines et désactiver les exoenzymes microbiennes ([Kraus et al. 2003](#)). Ceci pourrait expliquer une partie de la différence de minéralisation observée entre les sols (cf. hypothèse précédente).

5. Relation entre la faible teneur en SOC et le PE, $PE = f(1 / [SOC])$: En [2013](#), [Paterson & Sim](#) ont travaillé sur le PE avec 4 sols présentant des teneurs contrastées en carbone organique, allant de 2,3 à 40,1 g.kg⁻¹. Ils ont constatés que plus le SOC était faible, plus l'intensité de la PE était élevée ([Paterson & Sim 2013b](#)). Cette relation semble être cohérente avec nos résultats, ainsi qu'avec ceux de [Zimmerman et al. de 2011](#). Cependant, les auteurs n'ont pas apportés d'explications mécanistiques pour cette éventuelle relation.

3.4. Difficultés méthodologiques rencontrées avec les feuilles de *Liquidambar*

Comme expliqué en introduction de ce chapitre, le design initial de l'expérience en microcosmes ne comportait pas 24 mais 40 traitements différents (soit 160 échantillons) puisqu'il testait également l'effet de l'apport d'un autre type de matière organique, celle des feuilles d'arbres (*Liquidambar*), elles aussi apportées dans deux états distincts : fraîches ou pré-décomposées. Pour des raisons purement budgétaires, il n'a pas été possible de se procurer des feuilles d'arbre avec un important enrichissement en ^{13}C , à la différence de ce qui s'est passé pour la paille de blé. Nous nous sommes rabattu sur des feuilles de *Liquidambar* légèrement appauvries en ^{13}C , marquées à -39‰ (Tab. T2). Celles-ci nous ont été fournies gracieusement par l'équipe impliquée dans l'expérience FACE (Free Air Carbon dioxide Enrichment - Richard J. Norby) d'Oak Ridge (Ainsworth & Long 2004; Norby & Zak 2011). La signature isotopique de ces feuilles est évidemment proche de celle du CO_2 industriel utilisée sur le terrain, c'est à dire ca. -40‰. Bien entendu, ce type de matériel engendrait un risque expérimental supplémentaire compte tenu de la faible différence de $\delta^{13}\text{C}$ entre ces feuilles et les sols (-25,8‰ en moyenne (Tab. T2), soit un delta de ca. 13‰. Suite aux calculs de PE, les résultats obtenus avec les feuilles de *Liquidambar* furent particulièrement inattendus, aussi bien sur sol A que sur le sol F : le PE apparaissait alors plus ou moins intense, mais surtout négatif dans presque tous les traitements, et avec des cinétiques relativement erratiques.

D'où cela pouvait-il provenir ? Avais-je mis en évidence un puissant mécanisme de PE négatif et donc un formidable moyen de stockage de carbone organique dans les sols, rivalisant ainsi avec l'adsorption de certains biochars produits aux températures les plus élevées ? Mes feuilles, d'origine américaine, étaient-elles toxiques pour les communautés microbiennes de nos sols français ?... Autre chose, jouait-il, mais quoi ?

Propriétés	sol		Paille de blé		Feuille de Liquidambar	
	A	F	frais	décomposé	frais	décomposé
TOC (g kg ⁻¹)	12.94	28.34	398.2	388.5	423,1	440,6
Total N (g kg ⁻¹)	1.42	2.5	11.0	34.9	6,1	7
C:N ratio	9.13	11.33	36.44	11.15	69,21	63,41
Total P (g kg ⁻¹)	0.062	0.01	1.45	6.99	0,87	0,84
Total K (g kg ⁻¹)	14.9	14.2	43.0	5.19	1,87	2,29
δ ¹³ C (‰)	-25.2	-26.4	5871.51	5343.62	-39,1	-41,9
WHC (%)	39.8	38.2				
Bulk Density (g cm ⁻³)	1.25	1.15				
pH	7.5	5.5				

Tab. T2 Caractéristiques physiques et chimiques du sol agricole (A) et forestier (F), ainsi que des résidus de paille de blé et feuille de liquidambar, dans leur état frais et pré-décomposé.

L'examen approfondi des signatures isotopique du CO₂ émis dans les traitements témoins (sols seuls) révéla d'importantes variations : au lieu d'avoisiner la signature de -25,8‰ obtenue par mesure au CHN-IRMS (tab. T2), les signatures suggéraient un fort enrichissement en ¹³C de la SOM, atteignant des maxima jusqu'à -11‰ (Fig. T14). Ces variations, considérables à l'échelle des signatures naturelles, furent tout à fait négligeables pour le calcul du PE engendré par la paille de blé. En effet, celle-ci ayant un δ¹³C de 5870‰, cette variation de ~15‰ des témoins de ne représentait qu'un léger bruit de fond.

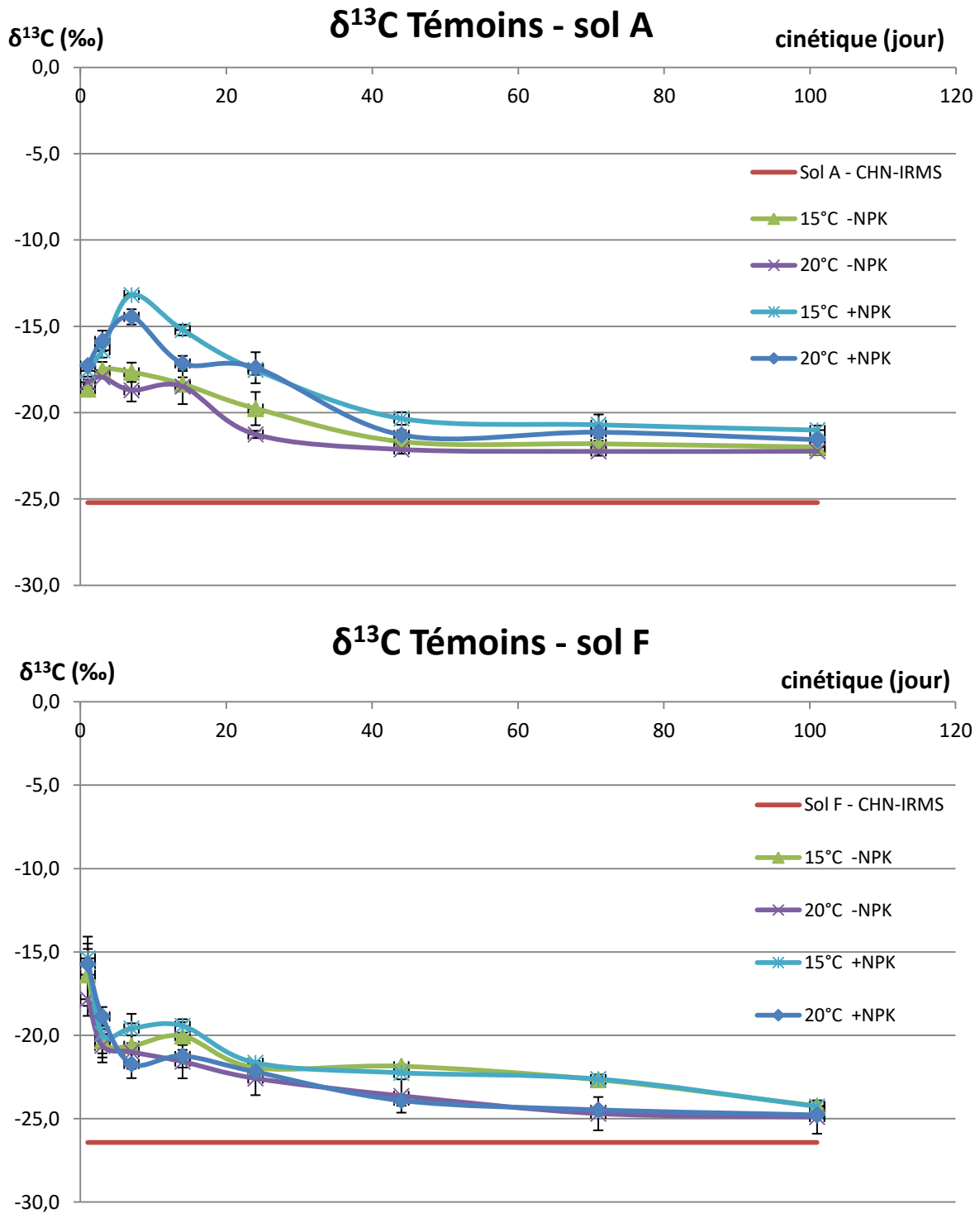


Fig. T14 évolution temporelle de la signature isotopique dans les sols témoins (i.e. sans apport de OM). En rouge, la valeur de référence pour chacun des sols, obtenue par CHN-IRMS

Pourtant, un faible écart de signature isotopique entre les sols et les FOM apportées est régulièrement présent dans des études de PE sans poser de problème particulier. Il est en particulier courant d'utiliser les différences de signatures isotopiques existant entre les plantes à métabolisme C3 et celles à métabolisme C4 (e.g. [Fu & Cheng 2002](#); [Dilly & Zyakun](#)

2008) pour « séparer » les flux de CO₂ en provenance du sol ou en provenance du végétal en cours de décomposition. La différence entre ces deux voies photosynthétiques est en effet bien connue : les valeurs moyennes de $\delta^{13}\text{C}$ varient de -22 ‰ à -30 ‰ pour les plantes à systèmes C3, et de -10 ‰ à -14 ‰ pour les C4 (Sternberg & DeNiro 1983; O'Leary 1988; Kuypers, Marcel M. M. Richard & Sinninghe Damste 1999; Chikaraishi et al. 2004). Selon que le sol utilisé ait été sous couvert végétal C3 ou C4 pendant suffisamment de temps pour présenter une signature isotopique homogène et proche de celle de son couvert végétal, la FOM végétale utilisée pour tester le PE est choisie dans le type C4 ou C3 afin de présenter un $\delta^{13}\text{C}$ bien différent de celui du sol.

Le scénario attendu ne s'est pas réalisé, ce qui m'a conduit à exclure 64 mésocosmes (i.e. 16 traitements × 4 réplicats) du protocole final. Malgré plusieurs mois de travail pour élucider le problème dans l'espoir de sauver les données par correction, le mystère persiste encore. Un nombre important d'hypothèses ont été émises, bon nombre d'entre elles ont été testées, et toutes furent invalidées plus ou moins profondément, selon que l'invalidation passait par des expérimentations, des calculs, de la bibliographie ou encore des registres.

A noter que, du fait de l'impossibilité pratique de manipuler et analyser 160 échantillons par jour simultanément, j'ai fait le choix de diviser ces échantillons en 4 sous-séries sur le critère des 4 réplicats par traitement. Chacune des sous-séries de 40 échantillons correspondaient donc à 1 réplicat pour les 40 traitements différents. Elles furent décalées dans le temps d'environ 8 jours. Ainsi, les variations isotopiques ayant été détectées dans les témoins de toutes les sous-séries, cela a permis d'écarter certaines hypothèses sur des événements ponctuels. De plus, comme toutes les « anomalies » ont été observées sur tous les témoins (8 traitements × 4 réplicats), indépendamment de leurs conditions expérimentales (sol agricole ou forestier, 15 ou 20°C, avec ou sans ajout de nutriments minéraux), plusieurs hypothèses ont pu être écartées d'office, telle qu'une contamination des nutriments apportés (NH₄NO₃ et/ou KH₂PO₄), des contaminations ponctuelles (e.g. atmosphère) et/ou une erreur de l'expérimentateur (inversion des ustensiles, verreries, spatules, fioles d'incubations, étiquetage, etc...). Je me suis donc concentré sur des hypothèses plus en amont afin de tenter d'identifier un dénominateur commun à l'ensemble des échantillons.

Les hypothèses émises peuvent être regroupées en 2 catégories. Tous les détails et protocoles associés ne pourront être précisés ici, pour des questions de temps.

- **Celles concernant les sols** : Fondamentalement, on peut soupçonner la présence d'un compartiment des sols présentant un $\delta^{13}\text{C}$ supérieur à la valeur moyenne obtenue via une analyse élémentaire (CHN-IRMS) sur des sols entiers, et qui serait possiblement sensible au pH. En effet, un lien peut être observé entre le pH des sols (Tab. T2) et l'allure des cinétiques de $\delta^{13}\text{C}$ des témoins (Fig. T14). Ceci me laissa suggérer que ce « compartiment mystère » était minéralisé plus vite en conditions acides, ce qui correspond ici au sol forestier (pH sol F = 5,5). On peut voir en effet que l'isotopie du sol F revient plus vite à une stabilité que celle du sol A (pH : 7,5). Ceci m' a permis de faire l'hypothèse corollaire que le « compartiment mystère » devait être plus réduit dans le sol F.
 - **Hypothèse compartiment carbonates** : testée et **invalidée** expérimentalement (photo 5 & 6)
 - **Hypothèse compartiment black-carbon** : testée et **invalidée** expérimentalement
 - **Hypothèse compartiment sensible à l'acidité du sol** : testée et **invalidée** expérimentalement
 - **Hypothèse d'un $\delta^{13}\text{C}$ différent entre la fraction soluble (présumée plus labile) et non soluble** dans les sols : testée et **invalidée** expérimentalement
 - **Hypothèse d'un $\delta^{13}\text{C}$ différent des débris végétaux des sols, e.g. du fait de signatures isotopiques hétérogènes au sein des structures des feuilles (Nguyen Tu et al. 2013)** : testée et **invalidée** expérimentalement
 - **Hypothèse d'une contamination des sols par des débris de plante en C4** : non testée mais **invalidée** par le calcul, les registres d'usage des sols, et les études antérieures réalisées sur ces mêmes sols (
 - **Hypothèse d'un fractionnement isotopique microbien** du sol : non testée mais **invalidée** par les recherches bibliographiques.



Photo T 5 & 6. Aperçu d'une étape d'acidification des sols et d'une étape de cristallisation du CO₂, lors de tests expérimentaux réalisés dans le but de mesurer la teneur en carbonates dans les sols ainsi que leur isotopie.

- **Celles concernant tous les autres paramètres :**
 - **Hypothèse contamination par l'atmosphère :** non testée mais **invalidée** par le calcul.
 - **Hypothèse contamination / défaillance de la colonne de soude** utilisée pour produire de l'air sans CO₂ pour réaliser les flushes : testée et **invalidée** expérimentalement
 - **Hypothèse contamination des gaz** vecteurs des analyseurs et de la rampe de mise sous vide (He et N₂) : testée et **invalidée** expérimentalement
 - **Hypothèse de contamination de l'eau utilisée** pour apporter les sols à leurs 80% de WHC : testée et **invalidée** expérimentalement
 - **Hypothèse de la défaillance du processus de mise sous vide et conservation du vide** dans les fioles de stockage des gaz pour passage ultérieur au spectromètre de masse : testée et **invalidée** expérimentalement
 - **Hypothèse d'un fractionnement induit par les microcosmes utilisés**, i.e. fioles en verre et septum en butyl/PTFE : non testée **mais invalidée** a priori car pas de « blancs » incubés, mais très peu probable étant donné que les modèles sont ceux utilisés en routine dans le laboratoire d'accueil de l'expérimentation.

- **Hypothèse corrélation entre ppmv-CO₂ et δ¹³C** : testée et **validée** (Fig. 15) ! En premier lieu mon interprétation fut la suivante : lorsque peu de CO₂ total est émis, la part respective due à notre « compartiment mystère » est plus forte en relatif, et influence donc plus fortement l'isotopie de l'échantillon. Inversement, son δ¹³C se trouve plus dilué par le reste du sol lorsque l'émission totale est plus forte, i.e. lorsque le temps d'accumulation entre 2 points de mesure est plus important et/ou que l'on s'éloigne du début de l'incubation où les sols furent physiquement perturbés. Mais une seconde interprétation / hypothèse se présenta à nous :
- **Hypothèse d'un biais du spectromètre de masse** utilisé. L'analyseur pourrait varier dans sa réponse en avec une diminution de la quantité de CO₂ mesurée. Or, lors de mes mesures, je passais régulièrement des références (ici du CO₂ pur au δ¹³C connu) en quantité très faibles, et aucune anomalie de cet ordre de grandeur ne fut détectée. Le biais pourrait alors ne pas être simplement quantitatif, mais relatif à la concentration. L'analyseur n'aurait alors pas une réponse linéaire en fonction de la concentration en CO₂ dans les échantillons de gaz. Entre autres tests, des quantités identiques de CO₂ furent alors injectées dans des volumes de gaz (N₂) croissant pour tester cette hypothèse. Mais là où j'obtins -13‰ pour 7000ppmv de CO₂ dans les microcosmes, les tests de ce biais de spectromètre aboutirent à -39,4‰, soit une valeur parfaitement conforme au standard utilisé. Verdict : testée et **invalidée**

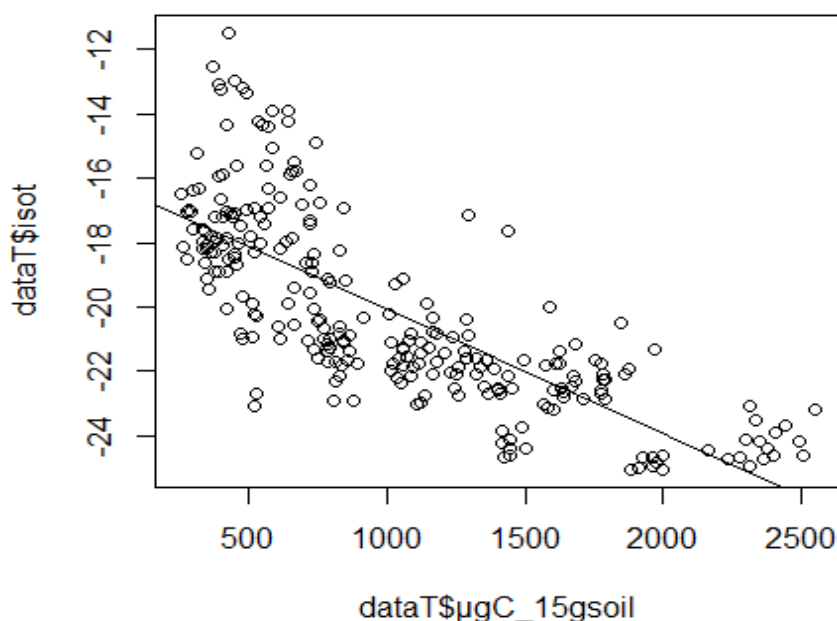


Fig.T15 Corrélation entre la signature isotopique mesurée au spectromètre de masse, et la concentration en CO₂ (ppmv) dans les échantillons correspondant.



Raphaël nous explique
 Son expérience. Illuminés
 par des néons, ces gros flacons sont remplis
 d'eau et de matières organiques brassées
 par des hélices.

Tiré du journal Charlie Hebdo

CHAPITRE 4 : *Le priming effect en milieu aquatique*

Le fonctionnement des écosystèmes aquatiques dépend des apports de matière organique dissoute et particulaire provenant non seulement de ces écosystèmes (matière organique autochtone), mais aussi des sols (Cole et al. 2006) et de la végétation (Danger et al. 2013) de leurs bassins versants (matière organique allochtone). Comme indiqué dans la synthèse générale, l'interaction entre ces catégories de matière organique, certaines très labiles et d'autres plus récalcitrantes, est susceptible d'induire, tout comme dans les sols, le mécanisme de « priming effect » (PE) décrit dans les chapitres précédents. Jusqu'à la fin des années 2000, ce processus a été globalement ignoré pour les écosystèmes aquatiques.

En 2010, il a été suggéré que ce mécanisme pourrait jouer un rôle important dans le contrôle des processus biogéochimiques au sein de ces systèmes écologiques (Guenet et al. 2010; Bianchi 2011). Par exemple, le PE pourrait stimuler la dégradation de la matière organique autochtone ou allochtone réfractaire dans les écosystèmes aquatiques marins ou continentaux (Guenet et al. 2010,2014), alors que ces écosystèmes sont parfois considérés comme des puits pour le carbone organique peu dégradable. Les articles de Guenet et al. (2010) et Bianchi et al. (2011) ont stimulé une importante activité de recherche sur le priming effect aquatique au cours des récentes années (voir par exemple la synthèse très récente de Bengtsson et al. 2018). Malgré tout, plusieurs points restent peu explorés :

- En premier lieu, une hypothèse forte pour les écosystèmes lacustres ou marins est que la production importante de métabolites facilement assimilables par les producteurs primaires planctoniques pourrait jouer un rôle important dans la stimulation de la matière organique plus récalcitrante. A ma connaissance, cette hypothèse a très rarement été testée en conditions réalistes, avec des producteurs primaires vivants, capables d'avoir leur propre dynamique, mais a été plus souvent testée avec des extraits d'algues ou des algues lyophilisées (cf. Bengtsson et al. 2018). Pour mieux comprendre les mécanismes contrôlant le PE et son importance dans les systèmes aquatiques, il est maintenant nécessaire d'utiliser des systèmes expérimentaux plus complexes, mieux à même de simuler des réseaux

d'interactions réalistes. De telles expériences devraient utilement compléter les expériences réalisées avec des molécules organiques labiles apportées à taux constant et supposées représenter l'effet potentiel de ces producteurs primaires.

- D'autre part, le PE aquatique n'a pas ou quasiment pas été testé dans un contexte de changements globaux, Or, les changements liés aux activités anthropiques, comme l'eutrophisation (nutriments dissous), le réchauffement climatique et l'augmentation de la teneur de l'atmosphère en CO₂, sont susceptibles d'influencer ce PE (Guenet et al. 2010).

- Enfin, les expériences qui ont été réalisées sur le PE étaient généralement des expériences en batchs, avec la mise en place d'un traitement en début d'expérience (par exemple un apport de matière organique labile) et un suivi régulier de l'évolution de la matière organique plus récalcitrante au cours du temps. Cette approche est souvent justifiée en systèmes terrestres compte tenu de la dynamique de la végétation et de la durée de vie des plantes. En revanche, elle est beaucoup moins à même de simuler la cinétique des interactions entre producteurs primaires et décomposeurs au sein des écosystèmes lacustres ou marins compte tenu du temps de renouvellement très court des organismes phytoplanctoniques. En conditions idéales, les cellules planctoniques sont capables de se diviser quotidiennement, ce qui assure une réponse très rapide des populations aux modifications de l'environnement. Cela signifie que les dynamiques des producteurs primaires et des décomposeurs pourraient être beaucoup plus fortement liées à très court terme par des mécanismes d'interaction complexes avec des rétroactions potentielles sur le cycle du carbone au sein des systèmes couplant les producteurs primaires et les décomposeurs (Zou et al. 2017). Compte tenu de cette spécificité du couplage entre réseau vert et réseau brun en écosystèmes aquatiques, il semblait intéressant de tester la faisabilité d'approches en chémostats – permettant d'atteindre et maintenir un état d'équilibre – pour tester l'impact des interactions en producteurs primaires et communautés microbiennes sur le devenir de la matière organique et sur le PE. A ma connaissance, de telles approches n'ont jamais été utilisées pour analyser le PE. J'ai donc choisi de les utiliser dans le cadre de mon travail de thèse.

J'avais donc pour objectif global de mieux évaluer l'importance potentielle de certains changements globaux sur les interactions entre producteurs primaires planctoniques, matière organique, et décomposeurs en utilisant des approches en flux continu. Par ailleurs, tel qu'évoqué en introduction ([page 36](#)), l'une des principales difficultés pour étudier le PE dans les écosystèmes aquatiques est la nécessité de distinguer les sources de CO₂ entre les différentes catégories de OM, comme le OC autochtone et le OC allochtone. Pour ce faire, le marqueur au Carbone 13 (¹³C) est un outil puissant, qui a été utilisé avec succès dans le passé au sein de microcosmes très simples (e.g. [Guenet et al. 2014](#); [Bengtsson et al. 2018](#); [Bianchi et al. 2015](#)).

Cependant, ces approches expérimentales réalistes utilisant du ¹³C doivent tenir compte de particularités propres aux milieux aquatiques. En particulier, des fractionnements isotopiques sont susceptibles d'intervenir au cours de diverses étapes ([fig. 16-17](#)) telles que la dissolution du CO₂ atmosphérique dans l'eau, la photosynthèse et la respiration des algues, la respiration des organismes hétérotrophes, etc... ([Carvalho et al. 2010](#)), ce qui pourrait conduire à la surestimation ou à la sous-estimation de l'intensité du priming effect. D'autre part, de nombreux producteurs primaires planctoniques ne sont pas strictement autotrophes, mais sont aussi susceptibles de consommer des molécules organiques simples, voire d'être phagotrophes. Ceci complique considérablement les approches expérimentales utilisant le ¹³C comme traceur. J'avais donc un premier objectif qui était d'analyser l'évolution des signatures isotopiques des différents compartiments biotiques et abiotiques, et d'identifier et de quantifier les éventuels fractionnements isotopiques du carbone au cours de sa circulation dans une communauté réaliste associant des organismes autotrophes (potentiellement mixotrophes) et hétérotrophes avec une matière organique complexe.

Je présenterai ci-après les deux expériences en systèmes aquatiques que j'ai réalisées au cours de ma thèse :

- la première expérimentation a pour but d'établir les différents fractionnements isotopiques s'opérant entre les compartiments biotiques et abiotiques, en plus de quantifier les flux auxquels ils sont associés. De plus, l'importance potentielle de la mixotrophie a été testée sur les interactions entre producteurs primaires, organismes décomposeurs, matière organique ainsi que sur la signature isotopique des différents compartiments ;

- la seconde est axée sur l'importance de certains facteurs environnementaux associés aux changements globaux sur le PE, ainsi que sur les interactions entre producteurs primaires, organismes décomposeurs et matière organique vis-à-vis de la dynamique du carbone organique et inorganique aquatique.

Les deux approches expérimentales ont été réalisées en microcosmes à St-Pierre-lès-Nemours, au sein du CEREEP Ecotron Ile-de-France (UMS 3194 du CNRS et de l'ENS). Ces expériences, préliminaires et novatrices dans les choix méthodologiques réalisés, représentaient une part de risque importante. Elles ne suffiront probablement pas à elles seules à conclure sur l'existence et l'importance du PE. Un modèle mécaniste de l'évolution de la signature isotopique des différents compartiments biotiques et abiotiques impliqués est donc en cours de construction en collaboration avec le LSCE. Cet aspect sera brièvement évoqué.

4.1. Fractionnement isotopique et impact de la mixotrophie sur les interactions entre producteurs primaires, décomposeurs et matière organique

4.1.1. Objectifs et principe général de l'expérience

Le fractionnement isotopique peut résulter d'une activité métabolique ou d'un processus physico-chimique. Il peut en exister à toutes les étapes, certaines étant documentées (e.g. dissolution du CO_2 , évaporation du carbone inorganique dissout (DIC)... voir Fig. T16), et d'autres non. La tâche a donc été de mettre en évidence ces fractionnements d'origine biologique alors nécessaire à la compréhension des résultats obtenus dans l'expérimentation principale (Fig. T17).

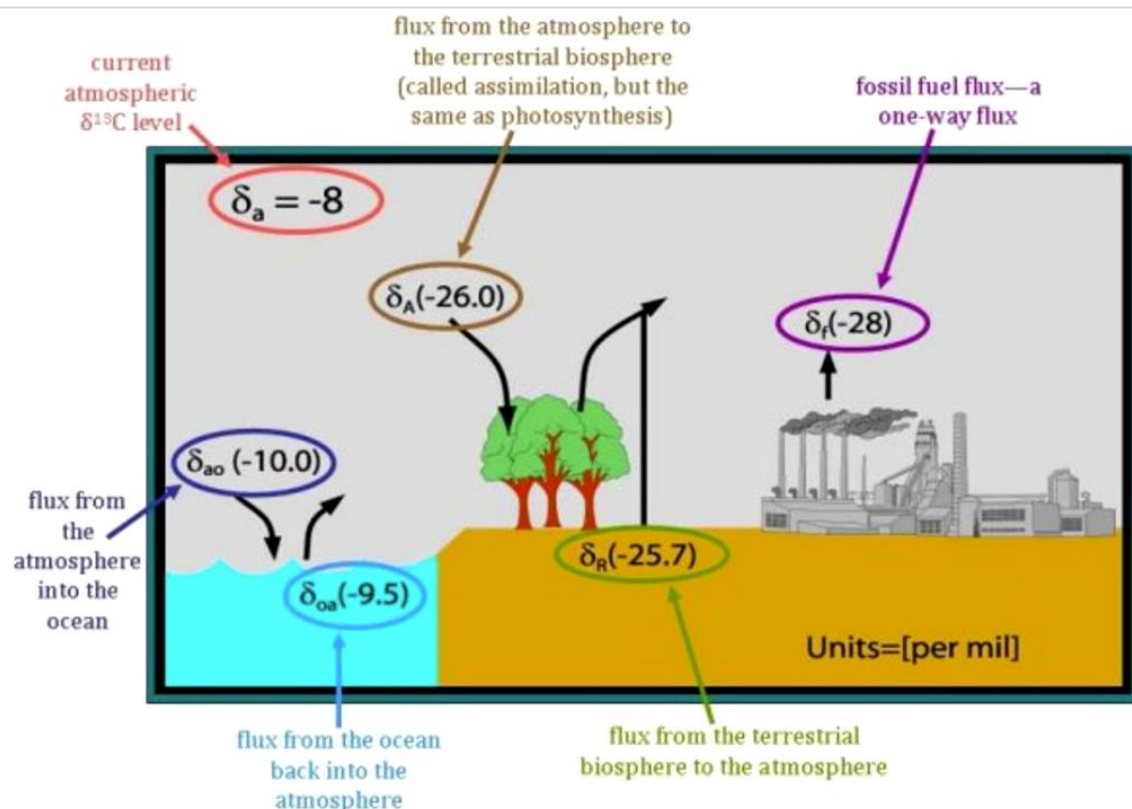


Fig. T16. The $\delta^{13}\text{C}$ values of the different fluxes both into and out of the terrestrial biosphere and ocean. These differences are disequilibrium fluxes caused by differences in time in the atmospheric carbon dioxide composition. (from [Earth System Research Laboratory](#) website)

De plus, connaissant la capacité de nombreux microorganismes du phytoplancton à fixer du carbone organique (Wan et al. 2011, Li et al. 2014), nous avons effectué une première expérience pour estimer l'importance de ce processus. En effet, une fixation de carbone en provenance de la dégradation de matière organique pourrait amener une confusion dans l'interprétation de données sur l'importance potentielle du PE. L'objectif de cette approche était double : (i) d'une part mieux comprendre l'importance dans la signature isotopique de certains processus associés au métabolisme d'un système relativement complexe incluant un producteur primaire et une communauté microbienne et différents types de matière organique ; (ii) d'autre part s'intéresser à la mixotrophie du phytoplancton, susceptible non seulement de modifier la signature isotopique du producteur primaire, mais aussi d'interférer dans la dynamique des différents compartiments.

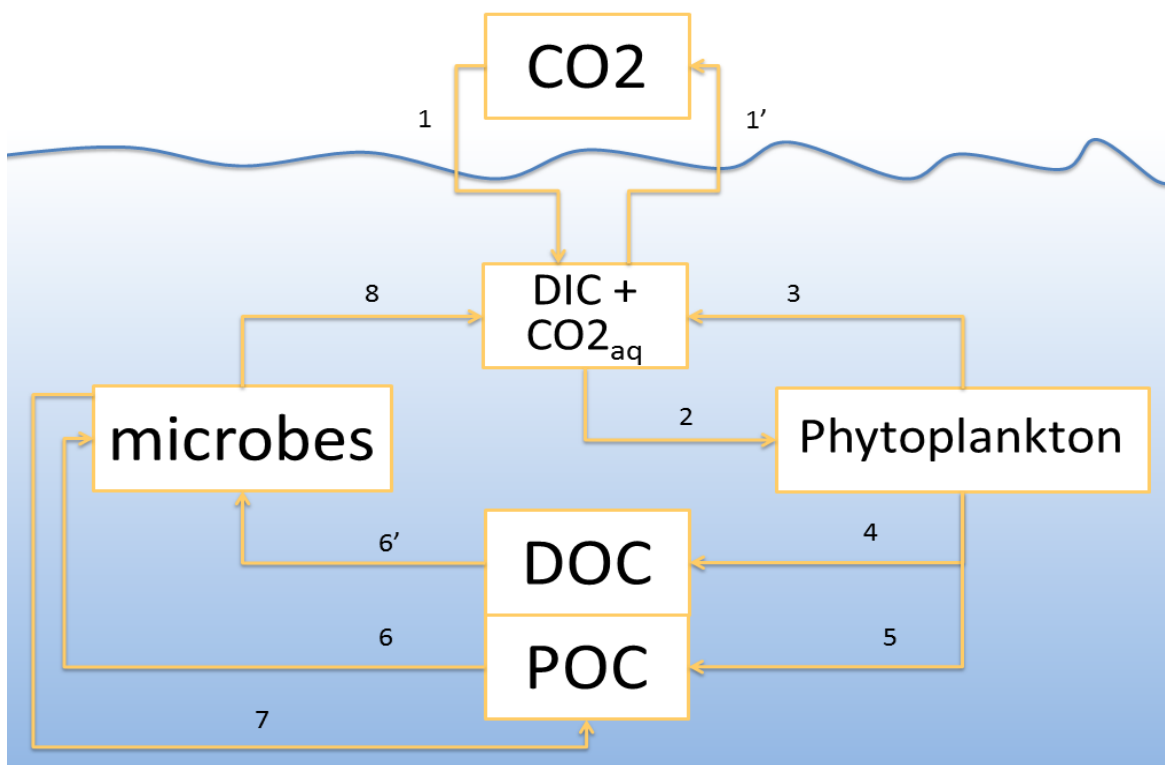


Fig. T17. diagramme représentant les différents flux de C entre les compartiments du système aquatique et de l'atmosphère. Pour chaque flux il existe deux directions auxquelles sont potentiellement associées des fractionnements isotopiques distincts

Cette première expérience, essentiellement méthodologique, consistait à séparer, autant que possible, les processus en jeu. Le principe général a donc été de choisir un milieu de culture (substrat minéral) compatible avec la mise en culture des algues et des communautés microbiennes et un substrat organique marqué au ^{13}C , suffisamment simple pour être à la fois assimilable par les bactéries et par le producteur primaire – si tant est qu'il ait des capacités mixotrophes. Le choix du substrat organique s'est porté sur le glucose. A partir de là, nous avons constitué différents niveaux d'assemblages des compartiments en jeu, avec :

(i) une communauté microbienne seule, cultivée dans le milieu de culture minéral avec le substrat organique ;

(ii) une population algale axénique seule, cultivée dans le milieu de culture minéral uniquement ;

(iii) la population algale axénique cultivée dans le milieu de culture minéral avec le substrat organique (test des capacités de mixotrophie) ;

(iv) la population algale axénique et la communauté microbienne cultivées en coexistence dans le milieu de culture minéral uniquement (dans ce traitement initialement très pauvre en carbone organique, la communauté microbienne est nécessairement très fortement dépendante de l'exsudation et de la mortalité du phytoplancton) ;

(v) la population algale axénique et la communauté microbienne cultivées en coexistence dans le milieu de culture minéral, avec le substrat organique (dans ce traitement, la communauté microbienne peut se développer indépendamment du phytoplancton et exercer une compétition en retour pour les éléments minéraux).

4.1.2. Matériel et méthodes

➤ Compartiments biotiques

Pour réaliser cette première expérience, nous avons utilisé la souche axénique (sans bactéries associées) CCAP 211/11b de l'espèce de phytoplancton *Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae). Plusieurs espèces du genre *Chlorella*, dont l'espèce *C. vulgaris*, sont en effet connues pour avoir des capacités mixotrophes (Scarsella et al. 2010, Wan et al. 2011, Li et al. 2014). Par ailleurs, elle présente l'avantage méthodologique de ne pas former de colonies, comme on peut l'observer avec d'autres espèces (e.g. *Scenedesmus obliquus*), facilitant énormément les estimations de densité des populations via la microscopie optique ou la cytométrie en flux (Photo 7 & 8).

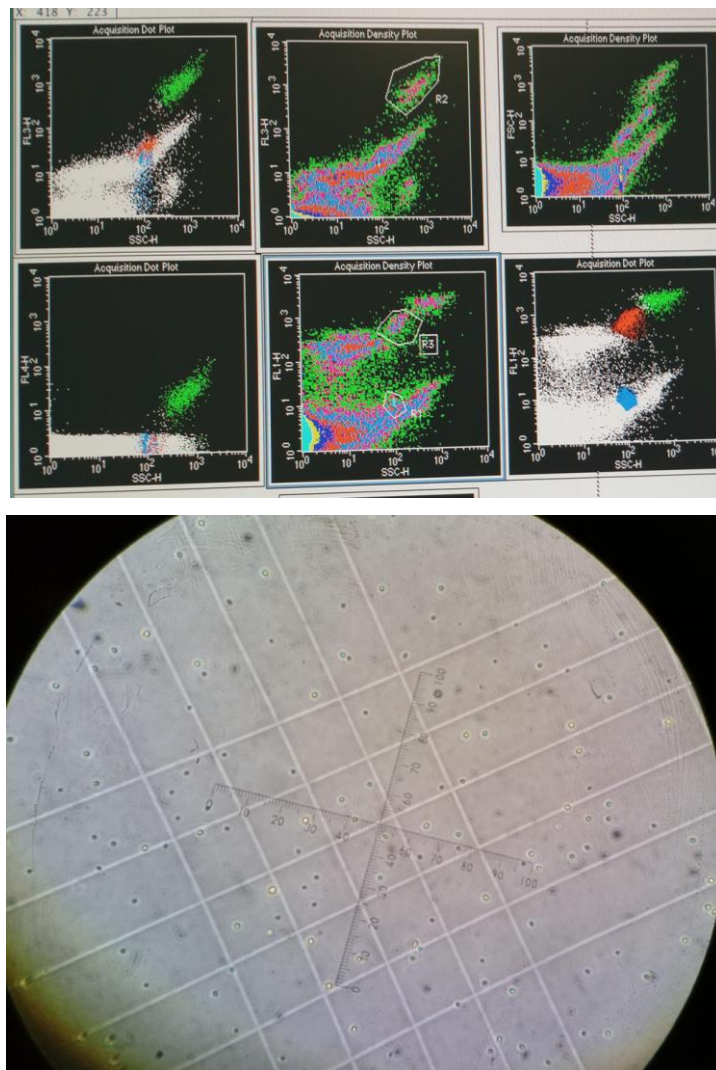


Photo. T7-8 Souche de *Chlorella* comptée par cytométrie en flux (photo du haut), ou observée par microscopie optique et comptée via un plaque de Malassez

Pour construire la communauté microbienne qui allait être associée au producteur primaire, nous avons utilisé une seconde souche, non axénique (CCAP 211/11c), de la même espèce et nous avons filtré la culture sur un filtre GFA à 1,6 μm pour retenir les algues et ne récupérer que la communauté microbienne dans le filtrat. En isolant la communauté de cette manière, nous avons maximisé la probabilité de coexistence entre le producteur primaire et la communauté microbienne. En effet, nous avons auparavant réalisé une première expérience en construisant des communautés microbiennes à partir de prélèvements réalisés en milieux naturels, comme cela avait été fait au cours d'expériences antérieures (Danger et al. 2007, 2008, Leflaive et al. 2008). Notre objectif était alors de constituer une communauté capable de réaliser une large gamme de fonctions écologiques, optimisant ainsi sa capacité à dégrader la matière organique. Malheureusement, cette démarche a abouti à la mort de la souche algale, sans que nous puissions déterminer le responsable microbien de cette mortalité. Considérant que la maximisation de la capacité de recyclage des communautés microbiennes n'était pas une contrainte majeure dans cette première étape méthodologique, nous avons préféré utiliser une approche moins risquée pour le maintien à long terme des populations.

➤ Conditions expérimentales

Cette expérience a été réalisée dans des chémostats (systèmes à flux continu) de 2 L. Les bioréacteurs étaient alimentés en continu avec un milieu minéral dérivé du milieu standard COMBO (Kilham et al. 1998). Considérant les concentrations en azote et phosphore du milieu combo COMBO medium (1000 $\mu\text{-moles de N-NaNO}_3\cdot\text{L}^{-1}$, 50 $\mu\text{-moles de P-KH}_2\text{PO}_4\text{ L}^{-1}$; ratio molaire N : P = 20, ratio massique N : P = 9,03) comme des teneurs de références ($\text{N}_{100}\text{P}_{100}$), nous avons appauvri ce milieu en P- PO_4 d'un facteur 4 ($\text{N}_{100}\text{P}_{25}$) par rapport au standard (ratio molaire N : P = 80, ratio massique N : P = 36,16) afin d'induire une légère limitation par le phosphore des producteurs primaires et de favoriser une compétition entre les chlorelles et les bactéries pour l'acquisition du phosphore (Danger et al. 2007).

Le taux de renouvellement journalier des milieux de culture était de 0,25. Ce taux de renouvellement simulait un taux de mortalité relativement modéré (le taux de consommation journalier du zooplancton en milieux naturels pouvant régulièrement

atteindre 40% des effectifs du phytoplancton). Ce taux de renouvellement était un compromis entre l'objectif de permettre l'action des processus biotiques autres que la mortalité, comme les interactions compétitives entre algues et bactéries (Olsen et al. 2002), et la nécessité de récupérer quotidiennement un volume de milieu de culture assurant toutes les analyses. Dans les traitements avec uniquement la communauté hétérotrophe, ainsi que dans certains traitements avec algues, un apport de glucose marqué au ^{13}C à 600‰ était apporté à une concentration de $20 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ dans la solution COMBO N₁₀₀P₂₅. L'alimentation des chémostats en milieux de culture avec ou sans glucose était assurée par des pompes péristaltiques.

Les milieux de culture ont été stérilisés par autoclavage (eau déminéralisée) ou par filtration sur filtre de $0,1 \mu\text{m}$ (solutions mères des milieux de culture, vitamines et solutions de glucose). Nous avons vérifié avec l'analyseur Shimatzu que la quantité de carbone organique dissous n'était pas altérée par la filtration. Les chémostats et ustensiles associés (tuyaux, filtres, couvercles, robinets, etc.) ont été autoclavés avant utilisation. Le montage et le remplissage des chémostats ont été réalisés sous hotte à flux laminaire (Poste de Sécurité Microbiologique de classe II) afin de réduire les risques de contamination et d'assurer des conditions identiques de démarrage des communautés biotiques, avant l'installation des microcosmes sur les étagères de culture.

Les chlorelles ont été inoculées dans les chémostats pour former une densité initiale de $100 \text{ cellules}\cdot\text{mL}^{-1}$. La communauté microbienne a été ajoutée à un volume identique au volume de solution algale ajoutée, i.e. respectant les proportions algues / bactéries observées pour la souche non axénique. Ce choix est dû au fait que des études ont mis en évidence la sensibilité des relations écologiques entre Chlorelles et décomposeurs à de subtiles changements de ce ratio (Thi Vu et al. 2010; Qu et al. 2014). Le même volume initial de solution de la communauté microbienne a été ajouté dans tous les chémostats non axéniques, qu'il y ait ou non des chlorelles.

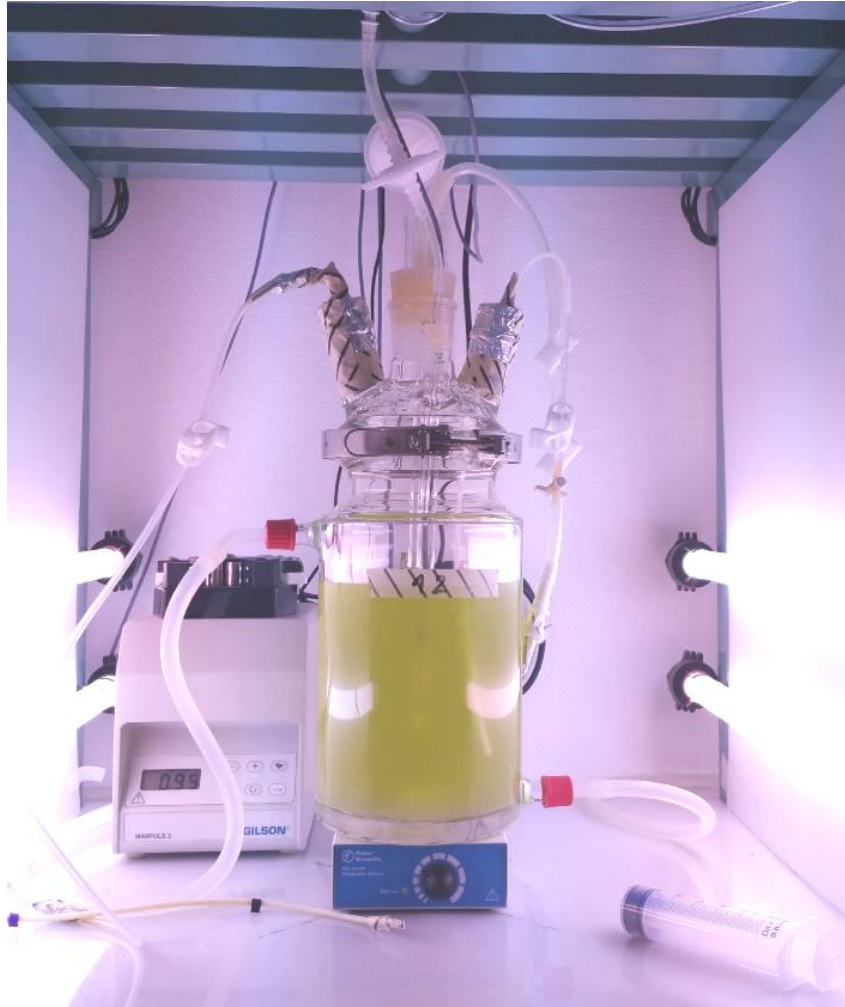


Fig. T18 Bioréacteur à double parois, utilisé pour les expérimentations aquatique de cette thèse.

Les 10 chémotats utilisés étaient des bioréacteurs à doubles parois de 2 L, maintenus à un maximum de 20°C durant le jour et à un minimum de 18°C durant la nuit grâce à deux cryothermostats et à la circulation d'eau maintenue à la température souhaitée dans l'enveloppe extérieure (double paroi) des chémotats (Fig. T18). Le léger cycle nyctéméral de fluctuation (2°C), vérifié par des sondes thermiques Pt100, était identique dans tous les systèmes et n'a donc pas eu d'influence sur la comparaison entre traitements.

Un filtre à air de 0,1 µm permettait un renouvellement de l'air au moyen d'une pompe, maintenait ainsi l'équilibre atmosphérique interne de chaque réacteur tout en préservant la stérilité interne de la culture sur toute la durée de l'expérience. Un agitateur magnétique assurait l'homogénéité des cultures. Les cultures ne contenant que des communautés microbiennes hétérotrophes ont été maintenues à l'obscurité pour réduire au maximum le risque de développement du producteur primaire dans le cas d'une éventuelle

contamination. Les cultures contenant des producteurs primaires ont été soumises à un rythme jour/nuit de 14h/10h), chaque microcosme étant éclairé par 4 tubes néons (T8) de 60 cm de longueur et 26 mm de diamètre (2 tubes Sylvania Grolux 18W Réf: F18W/GRO 0000709, et 2 tubes Sylvania Aquastar 18W Réf: F18W/174 0000644).

➤ **Plan factoriel**

Le plan factoriel à 5 modalités décrit précédemment a été réalisé avec 2 réplicats par modalité, ce qui a conduit à suivre 10 chémostats simultanément durant 4 semaines. Afin d'obtenir plus de puissance expérimentale, le plan factoriel a été répété en 3 blocs successifs de 4 semaines. Chaque bloc était séparé du suivant par une stérilisation complète des microcosmes expérimentaux et du matériel. Malheureusement, un problème non expliqué de floculation des algues avec la matière organique a provoqué l'arrêt d'une des séries expérimentales. Seuls deux blocs ont donc pu être exploités, aboutissant ainsi à 2 répétitions temporelles du plan factoriel à 2 réplicats suivant :

- Algues axéniques
- Algues axéniques + glucose
- Algues + décomposeurs
- Algues + décomposeurs + glucose
- Décomposeurs + glucose

➤ **Echantillonnage et analyses au laboratoire**

Des échantillonnages ont été réalisés quotidiennement tout au long des blocs successifs de l'expérience pour le suivi des densités de population de *C. vulgaris* et des communautés microbiennes. Les échantillons d'algues de 4 mL, fixés au paraformaldéhyde (PFA) à 2% et conservés à 4°C, ont été rapidement dénombrés au microscope optique au moyen d'une cellule de comptage de Malassez, qui permet la détermination d'une densité minimale de 10^3 cellules mL^{-1} , ainsi que des comptages par cytométrie en flux (BD FACSCalibur™, Cell Analyzer). La cinétique algale a été utilisée pour déterminer les différentes phases de la

dynamique des systèmes expérimentaux (croissance exponentielle, plateau, phase éventuelle de décroissance finale). Par ailleurs, quelques échantillons ont été prélevés pour des observations des communautés bactériennes en utilisant la méthode de [Porter et Feig \(1980\)](#) de marquage des cellules au DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) et une filtration des cellules marquées sur des filtres à 0,2 μm (GGTP).

Les observations ont été réalisées au microscope à épifluorescence (Leitz Dialux). Nous avons aussi vérifié de cette manière que les cultures axéniques étaient bien libres de bactéries. Des échantillons ont aussi été récoltés pour des analyses en cytométrie de flux. Tous ces échantillons de 2 mL (de tous les traitements) ont été fixés au PFA à 2% en concentration finale, maintenus à 4 °C à l'obscurité durant 1 h et congelés à l'azote liquide pour un stockage définitif à -80 °C jusqu'au moment des analyses qui permettront de dénombrer les procaryotes, ainsi que les eucaryotes autotrophes et hétérotrophes.

Des tests de limitation des producteurs primaires et des communautés microbiennes ont été réalisés dans des plaques à 6 puits avec 6 modalités (contrôle, + N, +P, +NP, + glucose, +NP et glucose)



Fig. T19 Plaques 6 puits pour tester la limitation des algues dans les différents traitements

Des échantillons de 12 mL filtrés à 0,2 µm sur des filtres à seringue (Sartorius Minisart, PES) ont été récupérés et conservés à -20°C pour déterminer les teneurs en N-NO₂, N-NO₃, N-NH₄ et P-PO₄ des milieux de culture grâce à un analyseur à flux segmenté continu (SEAL AA3 HR).

Des échantillons de 120ml fixés au chlorure mercurique (HgCl₂) ont été filtrés à 0,2µm puis stockés dans le noir à température ambiante en attendant d'être analysés pour déterminer 3 paramètres : la concentration en carbone inorganique dissous (DIC), la signature isotopique du DIC (DI¹³C) et celle du carbone organique dissous (DO¹³C) au laboratoire du M.I.O (Marseille).

Les échantillons de carbone organique ont été séparés en 3 catégories par filtration différentielle : DOC (< 0,3 µm, filtre GF75), carbone organique particulaire (POC) compris entre 0,3 µm et 1,6 µm (filtre GFA), et carbone organique particulaire supérieur à 1,6 µm.

La concentration en DOC a été déterminée avec un analyseur Shimadzu (TOC-5000A ; Kyoto, Japon). Les échantillons de milieux de culture avaient été préalablement filtrés sur des filtres Whatman GF-75 (0,3 µm), et conservés en triplicatas (à température ambiante et à l'obscurité après ajout de 12 µL de H₃PO₄ à 85% / 10ml de solution d'échantillon) dans des flacons en verre de 30 mL (ayant été soumis à une précombustion à 450 °C durant 4h) fermés hermétiquement avec des septums en téflon et silicone.

La concentration en POC et la signature isotopique du PO¹³C ont été obtenues en une seule mesure au moyen d'un spectromètre de masse (SerCon Integra CN).

4.1.3. Résultats préliminaires

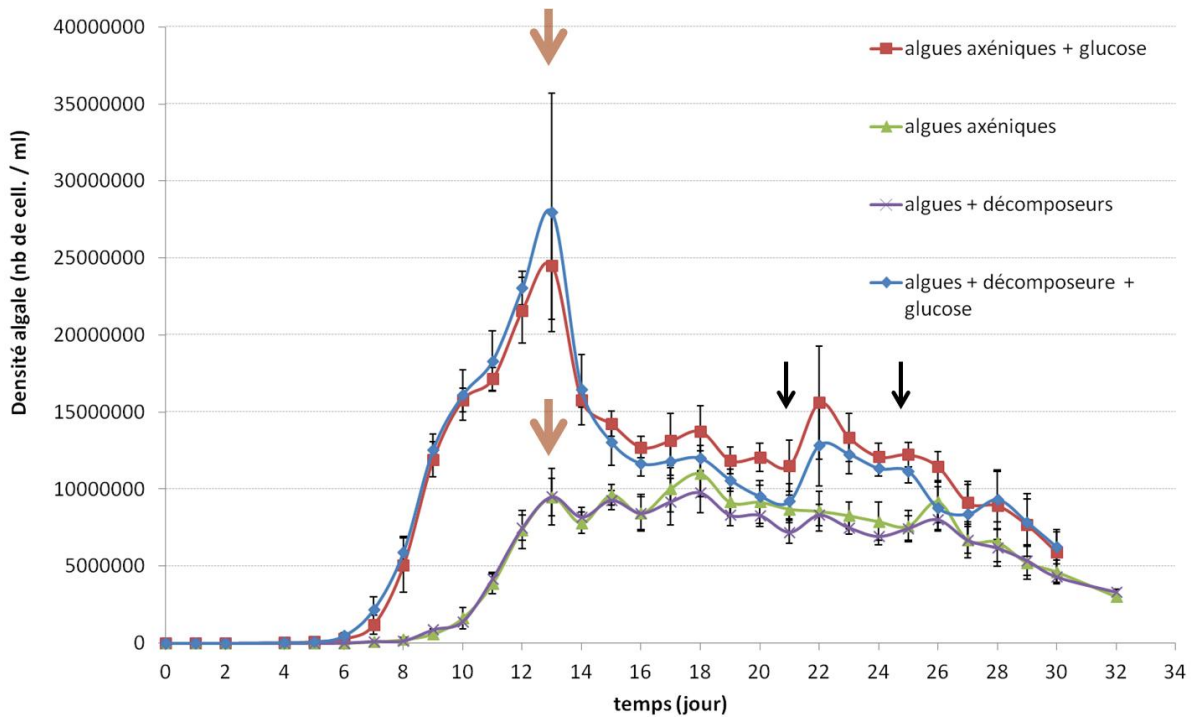


Fig. T20 Evolution temporelle de la densité algale de chlorelle selon les 4 traitements expérimentaux. Les flèches marrons indiquent le démarrage des systèmes, initialement en batch, en mode chémostat. Les flèches noires correspondent aux 2 points d'échantillonnage à l'équilibre. Les points correspondent à la moyenne des 4 répliquats expérimentaux avec leur erreur standard associée.

Sur cette [figure T20](#), on peut noter l'effet considérable de l'apport de glucose sur les densités. Notamment la mixotrophie algale (également visible sur la [photo T9](#)) a permis aux cellules phytoplanctoniques qui ont bénéficié d'un apport de glucose de multiplier par 2,5 leur densité à leur maximum de développement (vers le 13^{ème} jour)

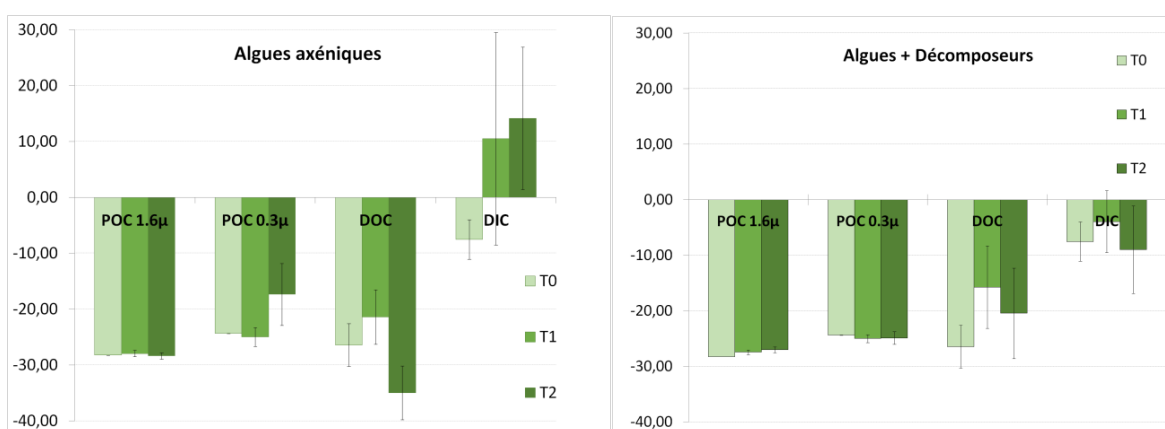
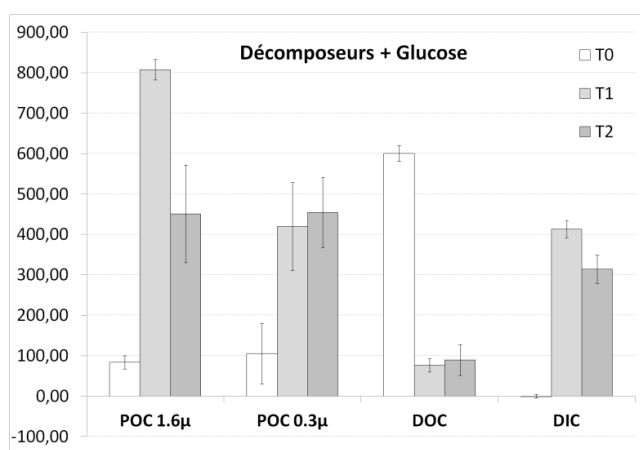
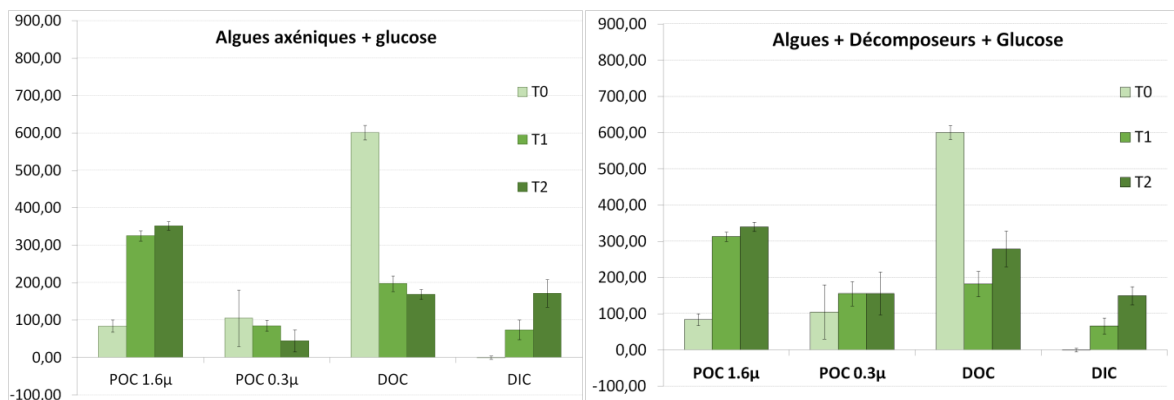


Fig. T21 Variations des signatures isotopiques des différents compartiments au cours du temps. L'axe des ordonné correspond au $\delta^{13}\text{C}$ exprimé en ‰. POC 1.6µ correspond au carbone organique particulaire récupéré sur des filtres GF/A de 1,6µm, donc récupérant toutes les particules supérieures à 1,6µm (algues, débris cellulaires, TEP, biofilms...). POC 0.3µ correspond au carbone organique particulaire récupéré sur des filtres GF-75 de 0,3µm, donc récupérant toutes les particules comprises entre 1,6µm et 0,3µm. T0 correspond au point initial, tandis de T1 et T2 correspondent aux deux points de mesures réalisés à l'équilibre.

A ce stade encore très incomplet de l'acquisition des résultats, il est délicats de s'avancer sur leur description et interprétation. D'après la [figure T21](#), on peut tout de même noter que :

- Dans les systèmes sans glucose, on observe peu de variations des signatures isotopiques naturelles au cours du temps, ce qui permet d'utiliser ces traitements comme contrôles vis-à-vis de ceux qui reçoivent du glucose marqué.

- Le ^{13}C a été apporté initialement sous forme de glucose dans le milieu de culture, or on retrouve bien les 600 ‰ du DOC à T0.

- On peut ensuite noter que, à l'équilibre, ce ^{13}C du glucose se trouve redistribué entre les différents compartiments du système. Ainsi, dans le traitement avec uniquement des algues axéniques et du glucose, on observe une augmentation du $\delta^{13}\text{C}$ dans le POC 1.6 μ et dans le DIC. Cela vient à l'appui de la mixotrophie observée dans la figure précédente ([fig. T20](#), [photo T9](#)) et suggère fortement que le DOC a été métabolisé par les algues et se retrouve alors dans leur biomasse (POC 1.6 μ), et qu'il a été également minéralisé par les algues (DIC). Cela suggère également un fractionnement différentiel des algues entre deux voies métaboliques engagées ici. Il semble que les isotopes lourds ($^{13}\text{C} > ^{12}\text{C}$) soient préférentiellement alloués à la biomasse plutôt qu'à la respiration.

- La présence des décomposeurs dans le système ne semble pas induire de fort changement de rapports isotopiques, mais ce résultat devra être mis en perspectives lorsque les données de densité microbienne seront disponibles.

- Les traitements avec décomposeurs seuls + glucose présentent quant à eux des isotopies bien différentes, suggérant ainsi que leur contribution dans les flux lorsqu'ils sont en présence des producteurs primaires est soit minime (relativement aux flux et/ou aux fractionnements induit par les algues), soit fortement influencée par les flux de ces mêmes producteurs primaires.

Comme déjà évoqué, cet aperçu encore partiel des résultats sera prochainement complété par d'autres données issues des analyses de DOC, DIC, POP, PON, POC, nutriments dissous, densités microbiennes, etc...

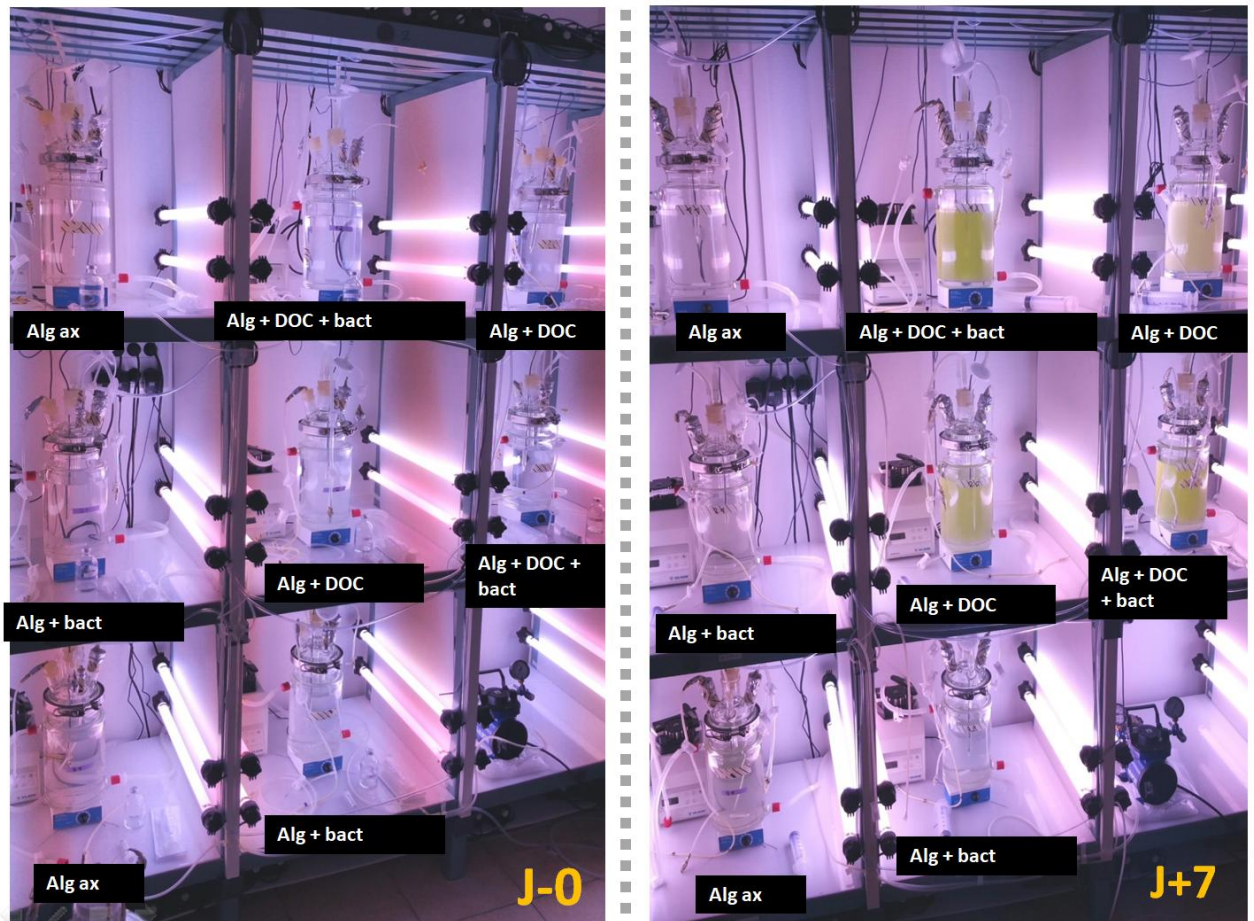


Photo. T9 cette photographie illustre l'impacte de la mixotrophie algale dans les systèmes. On voit en effet que les systèmes avec glucose (noté DOC : Algues axéniques + DOC et Algues axéniques + Bactéries + DOC) se sont développés très rapidement en 7 jours par rapport à leur homologues sans apport de glucose.

4.1.4. Discussion

Les éléments acquis à ce jour sur cette expérience permettent d'ores et déjà d'apporter plusieurs réponses à nos questions initiales. Le premier point sur les expériences en flux continu est que les choix réalisés en termes de conditions d'expérimentation ont permis de maintenir ces systèmes avec une relative stabilité sur plusieurs semaines et que ces expériences ont pu être répétées dans le temps avec une faible variabilité des réponses observées, si ce n'est lors d'événements de type catastrophique (floculation, mortalité massive), plus probablement liés à des facteurs extérieurs difficiles à maîtriser et nous ayant amenés à stopper l'expérience pour en recommencer une nouvelle. Nous avons donc répété les expériences dans le temps plus de fois que nous l'avions initialement prévu (4 séries expérimentales répétées dans le temps pour 2 séries exploitables). Cette forte incertitude sur le succès des expérimentations dans le temps m'amènera à privilégier, dans l'expérience suivante sur le PE, un protocole expérimental me permettant d'analyser avec suffisamment de puissance statistique une série temporelle unique.

La seconde observation est qu'après une phase initiale de croissance exponentielle de l'ordre de une à deux semaines (démarrage des cultures en batch) et une phase de relative stabilité de l'ordre de deux semaines en chémostat, l'abondance des chlorelles a chuté fortement. L'hypothèse la plus probable à ce stade pour expliquer cette décroissance est que le métabolisme global de ces systèmes n'a pas permis un recyclage suffisamment efficace de la matière organique et que des métabolites peu dégradables se sont accumulés, avec le risque que certains soient devenus toxiques au delà de certaines concentrations. Il est tout à fait possible que la diversité fonctionnelle de la communauté microbienne naturellement associée aux cellules algales soit très insuffisante pour assurer un recyclage efficace de la matière organique. Cet aspect ne faisait pas l'objet de l'étude. Cela signifie qu'il sera nécessaire d'avoir une diversité fonctionnelle initiale plus importante des communautés microbiennes dans l'expérience sur le PE pour espérer détecter une réponse sur le PE. Cela signifie aussi qu'il sera indispensable de suivre la diversité génétique et fonctionnelle des communautés pour mieux comprendre les interactions entre les producteurs primaires, les bactéries et la matière organique (voir par exemple [Leflaive et al. 2008](#), [Rochelle et al. 2018](#)).

Globalement, aucun effet significatif de la présence de communautés microbiennes sur l'abondance algale n'a été observé. Ce résultat est en totale cohérence avec celui obtenu antérieurement par (Danger et al. 2007b), qui n'ont pas observé d'effet de la présence de bactéries sur la Chlorophycée *Scenedesmus obliquus*, pour un ratio N:P similaire mais ont observé un fort effet négatif des bactéries lorsque le ratio a été multiplié par 2 (voir la figure 1 de cet article – Fig. T22). A ce jour les données sur les abondances bactériennes ne sont pas encore disponibles, ce qui ne permet pas d'aller plus avant dans notre réflexion sur les interactions algues – bactéries. Cependant, la très forte importance de la mixotrophie chez l'espèce *C. vulgaris* révélée par cette expérience permet d'ores et déjà d'avoir une réflexion plus globale sur les interactions entre producteurs primaires et décomposeurs.

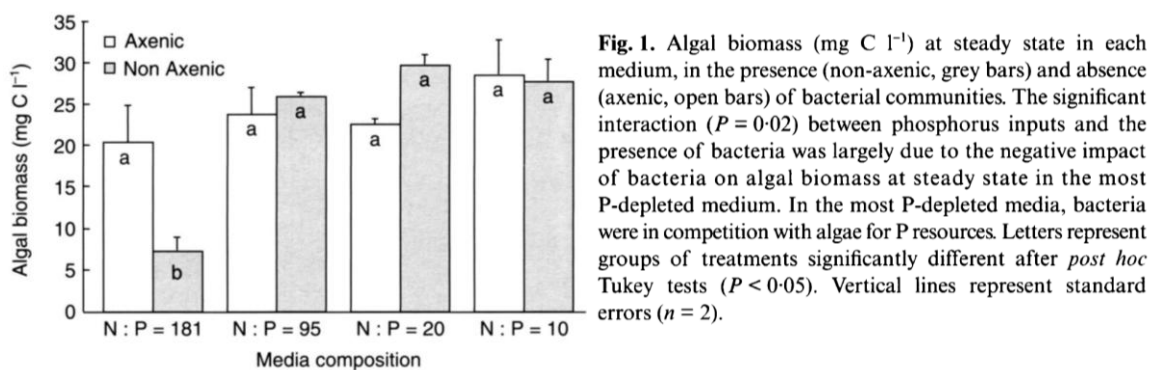


Fig. 1. Algal biomass (mg C l⁻¹) at steady state in each medium, in the presence (non-axenic, grey bars) and absence (axenic, open bars) of bacterial communities. The significant interaction ($P = 0.02$) between phosphorus inputs and the presence of bacteria was largely due to the negative impact of bacteria on algal biomass at steady state in the most P-depleted medium. In the most P-depleted media, bacteria were in competition with algae for P resources. Letters represent groups of treatments significantly different after *post hoc* Tukey tests ($P < 0.05$). Vertical lines represent standard errors ($n = 2$).

Fig. T22 issue de Danger et al. 2007b

En milieux aquatiques marins ou continentaux, les interactions entre le phytoplancton et les communautés microbiennes ont fait l'objet de nombreux travaux, en particulier dans des contextes de limitation forte de certaines ressources comme l'azote ou le phosphore. Dans de tels contextes, et compte tenu de plusieurs études suggérant une meilleure capacité des bactéries à capter le nutriment limitant (Rhee 1972, Joint et al. 2002), les chercheurs se sont interrogés sur les mécanismes de coexistence entre ces deux compartiments. Dans les eaux douces, Currie et Kalff (1984) ont émis l'hypothèse que, alors que les algues sont fréquemment limitées par le phosphore (P), les bactéries devraient être limitées par une ressource différente, probablement le carbone organique. Cette hypothèse stimula l'élaboration de modèles mathématiques (Daufresne et Loreau 2001) permettant d'expliquer la coexistence de ces deux compartiments par de fortes interdépendances. Ainsi, les bactéries, qui se révèlent souvent être de meilleurs compétiteurs que les organismes du

phytoplancton pour acquérir les nutriments minéraux, dépendraient en retour des producteurs primaires pour l'acquisition du carbone.

Cependant, les modèles théoriques ont considéré dans la plupart des cas les interactions entre le phytoplancton et les décomposeurs comme des interactions entre des autotrophes stricts et des hétérotrophes stricts. Notre expérimentation, en montrant le rôle potentiellement énorme de la mixotrophie (44%) – plus précisément de l'osmotrophie (capacité des cellules à absorber des composés organiques dissous à travers leurs parois) – chez un représentant d'un groupe taxonomique extrêmement commun au sein des communautés algales planctoniques, soulève la nécessité d'intégrer de manière plus importante cette capacité de mixotrophie au sein des réseaux d'interactions pélagiques.

L'osmotrophie est un mécanisme important mais encore souvent négligé au sein des Chlorophycées, des Euglénophytes et des Cryptophytes, mais aussi de nombreux dinoflagellés. Elle peut être un moyen efficace d'acquérir des sources carbonées sans dépendre strictement de la photosynthèse. Notons que cette forme de mixotrophie ne concerne pas uniquement des Eucaryotes mais aussi des Bactéries et des Archaea (Stoecker et al. 2017). Par ailleurs, certains organismes du phytoplancton (Chrysophytes, Dinoflagellés) ne sont pas strictement des organismes photosynthétiques mais sont aussi des organismes phagotrophes, capables d'ingérer de la matière organique particulaire ou des bactéries (Marchello et al. 2018). De nombreux organismes dotés de flagelles ont en fait cette capacité à combiner de la photosynthèse et de la phagotrophie (Raven 1997). Ainsi que le souligne Vadstein (2000), la concentration en phosphore est multipliée par plusieurs ordres de grandeur dans une bactérie par rapport à l'eau libre. Dans des systèmes aquatiques où les nutriments dissous sont peu disponibles, ou pour des organismes aux moindres capacités d'acquisition des nutriments (Litchman et al. 2015), la phagotrophie peut aussi être une stratégie efficace.

Globalement, une grande diversité a été observée dans les formes de mixotrophie (Mitra et al. 2016), qui s'avère un processus commun au sein du plancton (Stoecker et al. 2017). Jusque là, la mixotrophie a peu été insérée dans les modèles s'intéressant au cycle du carbone en milieux aquatiques (Weisse et al. 2016). Les premières tentatives montrent que la prise en compte de ce processus et de sa forme (osmotrophie ou phagotrophie par

exemple) peut modifier des éléments clés du cycle biogéochimiques comme la production primaire brute, les transferts vers le niveaux trophiques supérieurs, les caractéristiques stœchiométriques des organismes, la sédimentation ou la minéralisation de la matière organique, et donc le rôle global de pompe biologique du carbone des écosystèmes aquatiques (Mitra et al. 2014, Ward & Fallows 2016, Ghyott et al. 2017, Moorthi et al. 2017, Stoecker et al. 2017).

Il n'est pas possible à travers cette expérience de savoir si la mixotrophie pourrait changer nos prédictions sur le PE. En revanche, il semble très probable que ce processus devra être pris en compte pour estimer l'importance quantitative de ce processus. Compte tenu de l'importance de l'acquisition du carbone par la voie hétérotrophe dans cette expérience (44,5 % du carbone assimilé et présente dans la biomasse des chlorelles provenait du glucose marqué), négliger cette voie d'assimilation essentielle reviendrait nécessairement à fausser fortement les bilans de flux associés au cycle global du carbone.

4.2. Effets des changements globaux sur les interactions entre producteurs primaires planctoniques, décomposeurs et matière organique

Conscient des difficultés propres à l'étude du priming effect en milieu aquatique, et porté par la conviction qu'il dépend fondamentalement de l'aspect stœchiométrique et énergétique, j'ai élaboré cette expérimentation en plusieurs phases en jouant sur ces deux aspects. De plus, ce sont au total 23 paramètres qui ont été échantillonnés/mesurés pour tenter de faire la part des choses de la manière la plus précise possible : densité algale et microbienne ; $^{13}\text{CO}_2$ atmosphérique; concentration de N-NO_2 , N-NO_3 , N-NH_4 et P-PO_4 dissous; DOC ; DO^{13}C ; DIC ; DI^{13}C ; POC et PO^{13}C algale et microbien ; POP ; PON ; DON ; métagénomique (bactéries, archée et champignons); pH ; Chlorophylle a ; diversité fonctionnelle microbienne via Biolog ecoplate ; et tests de limitation et co-limitation des systèmes.

Malheureusement, comme pour l'expérimentation n°1, encore beaucoup d'échantillons restent à analyser (ca. >5000 dans différents laboratoires, avec plusieurs collaborations), et le temps limité ne me permet pas de détailler ici les protocoles, les raisons et la portée scientifique de chacune de ces analyses, de manière aussi précise et exhaustive qu'espérée.



Photo T10 fioles de prélèvement de DIC-DI ^{13}C en attente d'analyses au spectromètre de masse

4.2.1 Objectifs et principe général de l'expérience

Comme indiqué dans l'introduction générale de ce chapitre, Les activités anthropiques ont induit une multitude de changements environnementaux de grande ampleur au sein des écosystèmes aquatiques, comme :

- une eutrophisation de nombreux milieux (qu'il s'agisse de systèmes continentaux ou de systèmes marins côtiers),
- des modifications des équilibres entre nutriments (avec comme conséquences des changements potentiels des contraintes stœchiométriques associées aux changements de ratios entre nutriments, en particulier le ratio N : P),
- une augmentation des apports de matière allochtone par érosion des surfaces continentales, du fait de l'utilisation croissante de terres naturelles pour l'agriculture, des modifications des pratiques agricoles et de l'augmentation de la fréquence des événements climatiques extrêmes,
- un réchauffement des écosystèmes,
- *etc.*

Plusieurs de ces changements globaux sont susceptibles non seulement de modifier les réseaux d'interactions au sein des communautés et l'équilibre entre compartiments biotiques, mais aussi d'influer sur le cycle global du carbone (via par exemple le PE ou la modification du couplage entre cycles des éléments). Mon objectif était d'apporter des éléments de réponse sur l'impact de ces changements globaux. Afin de garder une forte cohérence à mon projet de thèse, j'ai choisi d'axer l'expérience sur la dégradation de la matière organique d'origine terrestre en milieux aquatiques. Le modèle de matière organique retenu se tourna rapidement vers la paille pré-compostée utilisée pour les expériences réalisées en milieu terrestre. Cette paille présentait en effet plusieurs avantages (voir Matériel & Méthode – 4.2.3, [page 131](#)), dont celui de constituer un bon modèle de matière organique relativement « récalcitrante » et de présenter un fort marquage au ^{13}C ($\delta^{13}\text{C} = 5343\text{‰}$) augmentant ainsi les chances de déceler un effet de sur-minéralisation de la paille (PE) en présence de phytoplancton.

Douze chémostats de 2 L ont été suivis de manière simultanée au sein du CEREEP-Ecotron IDF. Nous avons donc choisi un plan factoriel croisant de manière équilibrée 2 traitements avec 3 répliques :

- Le premier traitement comportait deux modalités : l'absence ou la présence de producteurs primaires dans le milieu ;
- Le second traitement comparait 2 températures : 20°C et 25°C.

Le premier traitement avait pour objectif de tester l'hypothèse, émise par [Guenet et al. \(2010\)](#), suggérant que l'excrétion de composés labiles par les producteurs primaires planctoniques pourrait stimuler la minéralisation de la matière organique allochtone (PE). Le second traitement avait pour objectif de tester l'effet potentiel du réchauffement climatique sur ce PE. Notre hypothèse étant que le réchauffement, en augmentant l'activité microbienne globale (bactérienne et algale), pourrait aussi stimuler le PE.

Ces deux traitements ont été maintenus de manière constante tout au long de l'expérience. Pour analyser les effets potentiels d'autres paramètres environnementaux, nous avons choisi de profiter du principe des cultures en flux continu en chémostats : dans de tels systèmes, et avec un taux de renouvellement du milieu approprié (c'est-à-dire compatible avec les capacités de renouvellement des organismes), les bioréacteurs atteignent un état d'équilibre stationnaire pour lequel la biomasse des compartiments vivants et la concentration des différents substrats sont constantes. Une fois un équilibre atteint et les échantillonnages réalisés, nous avons donc modifié les conditions du milieu pour atteindre un nouvel état d'équilibre. Cinq étapes successives ont ainsi été mises en place et analysées. Au cours de ces 5 étapes, nous avons manipulé les caractéristiques stœchiométriques des substrats minéraux et le ratio entre carbone organique récalcitrant et labile. Puis, dans la dernière étape, nous avons testé l'hypothèse relative à la première étape, mais selon un autre mode de culture : le batch. Ceci notamment afin de permettre un

temps de résidence plus long de la matière organique récalcitrante qui, comme le reste de nos systèmes, était renouvelée quotidiennement à un taux de 20%.

Etape 1 – Les systèmes étant en flux continu (taux de renouvellement journalier = 0,2) avec apport de paille pré-décomposée (20 mg L⁻¹), nous avons utilisé un milieu de culture dérivé du milieu standard COMBO (N₁₀₀P₁₀₀). Au lieu d'utiliser le ratio N:P du milieu COMBO (ratio molaire N:P = 20, ratio massique N:P = 9,03), nous avons réduit la teneur en azote d'un facteur 100 (N₁P₁₀₀). Notre hypothèse était que, bien qu'assez riche pour soutenir une production primaire importante, ce milieu N₁P₁₀₀, déséquilibré en nutriments (ratio molaire N:P = 0,2 ; ratio massique N:P = 0,09) serait plus susceptible d'induire une limitation en azote des bactéries et de stimuler la dégradation de la matière organique allochtone (paille pré-décomposée) par « N-mining », si notre hypothèse de stimulation du PE par l'exsudation de molécules organiques labiles par les producteurs primaires s'avérait exacte.

Etape 2 – Au cours de cette deuxième étape, nous sommes passés d'un milieu de culture N₁P₁₀₀ à un milieu de culture N₁₀₀P₅₀ du milieu COMBO (ratio molaire N:P = 40 ; ratio massique N:P = 18,06). Notre hypothèse était que ce ratio N:P, plus équilibré pour les producteurs primaires, devrait réduire leur exsudation de molécules organiques labiles et donc réduire le PE. Nous avons modifié les concentrations absolues des 2 nutriments majeurs (augmentation de l'azote accompagnée d'une réduction du phosphore), au vu de nos expériences antérieures avec le milieu COMBO, dans l'objectif de modifier le moins possible la biomasse totale du phytoplancton dans les réacteurs.

Etape 3 – Au cours de cette étape, nous avons ajouté un apport équivalent de carbone labile (20 mg C L⁻¹ sous forme de glucose non marqué) à celui du C récalcitrant apporté sous forme de paille marquée au ¹³C. Le taux de renouvellement journalier de 0,2 a bien sûr été maintenu pour l'ensemble du système (comme pour toutes les étapes en mode chémostat, i.e. 1 à 4). Notre hypothèse initiale était que l'apport de C organique facilement métabolisable et les quantités importantes de nutriments apportées par le milieu dérivé du COMBO N₁₀₀P₅₀ devraient favoriser la formation de biomasse microbienne. De plus, cette étape questionne l'interaction entre phytoplancton et décomposeurs. Ces derniers n'étant plus tributaires des premiers pour la disponibilité en C, on pourrait s'attendre à ce que les

décomposeurs prennent le dessus dans les systèmes, au détriment du phytoplancton. Cependant, la mixotrophie pourrait contrecarrer cette prédiction. Par ailleurs, un corollaire à cette hypothèse serait une diminution du PE, voire un PE négatif.

Etape 4 – Le protocole expérimental, axé sur la dégradation de la matière organique allochtone en milieu aquatique en absence ou en présence de producteurs primaires planctoniques, ne permettait pas d'analyser l'effet de l'apport de paille sur ces producteurs primaires. Répondre à cette question dans un système factoriel classique aurait nécessité de manipuler non pas 12, mais 24 microcosmes simultanément. Nous avons tiré avantage du principe des chémostats pour créer une quatrième étape, similaire à l'étape 1 en termes d'azote et de phosphore (N_1P_{100}), mais sans apport de paille marquée ni apport de glucose. La comparaison des producteurs primaires entre l'étape 1 et l'étape 4 devrait apporter une réponse à notre interrogation. De plus, cette étape fut réfléchi vis-à-vis de la suivante : en retirant la matière organique allochtone (paille) très enrichie en ^{13}C , les systèmes devraient avoir retrouvé au début de la dernière étape une isotopie proche de celle observée au début de la première étape.

Etape 5 – Au cours de cette ultime étape, nous sommes retournés aux conditions initiales (N_1P_{100}) du substrat minéral et nous avons apporté à nouveau 20 mg C L^{-1} de paille marquée (avec donc les mêmes hypothèses que pour l'étape 1), mais cela en absence de renouvellement des microcosmes. Nous sommes ainsi passés d'un mode « chémostat » à un mode « batch ». Les objectifs étaient doubles. D'une part, nous ne savions pas si le renouvellement quotidien de 20% des substrats permettrait d'obtenir un signal satisfaisant en termes de minéralisation de la matière organique et des contrastes suffisants pour les marquages isotopiques des différents compartiments (le passage à un mode batch devrait permettre de magnifier les différences éventuelles de par un temps de résidence bien plus long de la matière organique récalcitrante). D'autre part, il nous semblait très utile de comparer le même design expérimental avec ces modes de culture très contrastés.

4.2.2 Pourquoi utiliser des chémostats ?

Une des raisons de notre choix a été citée ci-dessus. Les cultures en flux continu en mode chémostat permettent sous certaines limites de s'affranchir des conditions antérieures et d'avoir plusieurs états d'équilibre successifs. De manière très concrète, cela nous a permis d'aborder non pas 4 mais 20 situations factorielles contrastées en une seule expérience avec les mêmes 12 microcosmes. Un autre avantage énorme de l'approche en chémostats est la possibilité de récupérer quotidiennement une fraction non négligeable du milieu et de ses différentes composantes (400 mL dans le cas de cette expérience) pour des analyses ultérieures. Cependant, d'autres raisons plus fondamentales nous ont aussi amenés à privilégier un renouvellement continu. D'une part, la possibilité d'obtenir des états stationnaires successifs permet de démontrer plus facilement l'influence de certains facteurs (facteurs limitants par exemple). D'autre part, cette approche avec des phases stationnaires est beaucoup plus en accord avec les perspectives de modélisation envisagées pour mieux comprendre les interactions entre producteurs primaires – décomposeurs – matière organique et tester l'existence du PE. Les freins au développement de ces processus de culture continue sont associés à la lourdeur des suivis (il n'est pas si simple que cela de maintenir sur une longue période des systèmes en flux continus) et au risque non négligeable de contamination par des microorganismes extérieurs. Le lecteur notera que du fait de contraintes techniques liées à la présence de matière organique particulière, les systèmes n'étaient pas de vrais systèmes en flux continus comme c'était le cas lors de la première expérimentation (via pompes péristaltiques), le renouvellement étant fait quotidiennement de manière manuelle (voir section c).

4.2.3. Matériel et méthodes

Compartiments biotiques et matière organique – Pour réaliser cette seconde expérience, nous avons utilisé la souche non axénique CCAP 211/11c de l'espèce de phytoplancton *Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae). Par ailleurs, nous avons ajouté dans tous les microcosmes une souche de l'espèce *Acinetobacter bouvetii*. [Bianchi et al. \(2015\)](#) ont en effet pu mettre en évidence en laboratoire l'existence du PE avec cette seule souche. Les *Acinetobacter* sont omniprésentes et peuvent être trouvées dans des environnements variés

parfois riches en matières organiques complexes. L'espèce *A. bouvetii* a été initialement isolée dans des boues activées (Carr et al. 2003). Pour finir, la communauté microbienne s'est naturellement construite entre 3 origines :

- Souche non-axénique de *Chlorella vulgaris*,
- *Acinetobacter bouvetii*,
- paille pré-décomposée avec sa communauté de décomposeurs associée.

Matière organique allochtone – Nous avons utilisé comme matière organique modèle de la paille de blé marquée au ^{13}C (CEA de Cadarache). Après une phase initiale de séchage à 30 °C pendant 10 jours, puis un broyage à 2 mm avec un mixeur (Waring commercial®) de la paille fraîche, nous lui avons fait subir une phase de pré-décomposition de 3 mois en incubateurs à 25°C. La paille broyée a été mise dans des sacs de litière (avec une taille de maille de 35 μm), qui ont ensuite été placés dans des récipients sur un Luvisol à 80% de sa capacité de rétention en eau. Les récipients ont été recouverts de Parafilm pour minimiser l'évaporation sans affecter les autres échanges de gaz. La taille des mailles des sacs de litière a permis la colonisation des communautés de décomposeurs bactériens et fongiques, tout en empêchant le mélange de la paille avec le sol. À la fin de cette étape de pré-décomposition, la paille de blé avait perdu 72,4% de sa masse initiale, ce qui avait induit une diminution par 3 de son ratio C:N (C:N massique = 11,13) et une diminution par 5 de son ratio C:P (C:P massique = 55,58). Cette phase de pré-décomposition a transformé la paille fraîche en un matériel organique non seulement plus riche en nutriments, mais aussi beaucoup plus stable (récalcitrant). Les expériences réalisées en milieu terrestre ont ainsi montré que son taux de minéralisation dans le sol était 5,5 fois moindre que celui de la paille non compostée. La forte stabilité biochimique et le fort marquage au ^{13}C ($\delta^{13}\text{C} = 5343,62$) de la paille compostée en faisaient un matériel de choix pour comprendre le devenir de la matière organique allochtone en milieux aquatiques. Avant d'être utilisée pour les expériences en chémostats, la paille pré-décomposée a été filtrée sur un tamis à 2 mm pour éliminer les fractions les plus grossières.

Conditions expérimentales – Avant de lancer l'expérience, une trentaine de tests préliminaires ont été réalisés pour vérifier la capacité des chlorelles à se développer en présence de la paille, de sa communauté microbienne associée, de la souche *Acinetobacter bouvetii*, dans plusieurs combinaisons et proportions. Ces tests préliminaires ont révélé une forte capacité de développement des cellules phytoplanctoniques dans les conditions associées avec la communauté de décomposeurs la plus complète. L'expérience définitive a été réalisée dans 12 chémostats à flux continu de 2 L, dans des conditions globalement similaires à celles utilisées pour l'expérience préliminaire. Je ne reviendrai donc pas sur les éléments déjà décrits précédemment. Les milieux nutritifs ont été comme précédemment dérivés du milieu standard COMBO (Kilham et al. 1998), en jouant sur les teneurs relatives en azote et phosphore. Le taux de renouvellement journalier a été fixé à 0,2 pour obtenir quotidiennement 400 mL de solution pour nos analyses. Contrairement à la technique utilisée au cours de la première expérience, nous avons dû procéder manuellement au renouvellement quotidien du milieu. En effet, il n'était pas possible d'assurer une entrée et une sortie identiques des particules de paille dans les microcosmes. J'ai donc procédé au renouvellement quotidien des milieux suite aux évènements de prélèvements. Ceci a induit une légère dilution rapidement compensée, avec des conditions légèrement fluctuantes et à nouveau proches de l'équilibre par intervalle de 24h après cette phase de renouvellement.

Les cultures contenant des producteurs primaires ont été soumises à un rythme jour/nuit de 12h/12h), chaque microcosme étant éclairé de la même manière que lors de l'expérience préliminaire. Comme lors de la première expérimentation, les 6 chémostats ne contenant pas de producteurs primaires ont été maintenus à l'obscurité pour réduire au maximum le risque de développement du producteur primaire dans le cas d'une éventuelle contamination. Nous avons choisi cette option compte tenu d'un risque non négligeable de contamination sur une durée d'expérience prévue pour 2 ou 3 mois. Un biais potentiel associé à ce choix pourrait être une minéralisation différentielle du fait d'une photo-dégradation non négligeable de la paille. Afin de mesurer et éventuellement corriger ce biais, nous avons stérilisé de la paille avec son milieu de culture et placé cette matière organique en conditions axéniques durant plusieurs semaines dans les mêmes microcosmes et dans les mêmes conditions que pour l'expérience définitive, soit à l'obscurité, soit en conditions jour/nuit (12h/12h). Nous avons réalisé des prélèvements de DIC et de DOC tout

au long de cette expérience pour quantifier la dégradation non microbienne et l'importance de la lumière sur cette dernière.

Plan factoriel – Le plan factoriel à 2 facteurs à 2 modalités (avec 3 répliquas par modalité) maintenu sur toute la durée de l'expérience et ces 5 étapes successives, a conduit à contrôler de manière continue 12 chémostats simultanément durant 3 mois.



Photo. T11 Photographie d'une partie des systèmes expérimentaux. Au 1^{er} étage, on peut voir les systèmes Algues + Décomposeurs à 20°C, au 2^{ème} les Décomposeurs maintenus dans le noir à 25°C, et au 3^{ème} les systèmes Algues + Décomposeurs à 25°C plus vert que leurs homologues à 20°C, ce qui reflète effectivement une densité algale supérieure.

Echantillonnage et analyses au laboratoire – Les méthodes utilisées pour cette expérience et qui étaient identiques à celles de l'expérience préliminaire ne seront pas décrites à nouveau dans cette section. Je m'attacherai uniquement à décrire les aspects non encore abordés.

Une différence essentielle entre les deux expériences est associée au fait que la seconde a été suivie à la fois de jour (phase éclairée) et la nuit (phase sombre). Notre objectif était de mieux cerner les différences éventuelles entre la phase claire et la phase sombre de la photosynthèse (mixotrophie, biosynthèse et exsudation de carbone organique, etc.) et les conséquences potentielles sur le PE. En effet, il est généralement admis que la biosynthèse des sucres est réalisée en phase sombre. Ainsi, cela suggère une plus grande exsudation de molécules labiles, ce qui pourrait se traduire par une augmentation du PE ici étudié, durant la nuit. De ce fait, estimer le PE sur des mesures uniquement de jour pourrait induire une sous-estimation du processus.

Un deuxième aspect novateur a été l'échantillonnage du CO₂ atmosphérique en phase nocturne, pendant les phases successives de plateaux de chémotats. Compte tenu des échanges entre l'atmosphère et l'eau et le lien entre les chémotats et l'extérieur via les filtres à air de 0,1 µm, il n'était pas possible de faire des vrais bilans de carbone à l'échelle des microcosmes. Notre démarche a été de clamber le flux de renouvellement d'air des systèmes durant 7h au cours de la nuit (à partir de 21h) et de réaliser un prélèvement de l'atmosphère des systèmes à partir de 4h du matin, laissant ainsi suffisamment de temps pour que du CO₂ s'accumule dans les microcosmes et rendre les analyses exploitables. Les échantillons gazeux ont été prélevés avec une seringue et des aiguilles au moyen d'une sonde en verre (soufflée sur-mesure pour les systèmes expérimentaux) munie d'un septum hermétique. Le contenu en gaz de la seringue était ensuite injecté et conservé dans des flacons de 12 mL, préalablement mis sous vide, et hermétiquement fermés avec un septum (butyl/PTFE), pour des analyses ultérieures en spectrométrie de masse (laboratoire de l'INRA et Grignon, et MIO de Marseille).

Les prélèvements pour les analyses des teneurs et de la signature isotopique du carbone organique dissous ont également été réalisés de jour et de nuit.

Contrairement à ce qui a été effectué au cours de l'expérience préliminaire, nous n'avons pas réalisé d'analyse de carbone total et de ^{13}C sur le compartiment particulaire global. La raison essentielle était qu'il n'était pas possible de séparer les différentes sources de matière organique (phytoplancton, paille, bactéries, débris cellulaires d'algues et de microbes, « Transparent Exopolymer Particles » (TEP), débris ...) récupérées sur les filtres. Compte tenu des nombreuses activités d'échantillonnage et de préparation d'échantillons à réaliser sur une plage temporaire extrêmement serrée, nous avons choisi de retirer cette étape, impossible à réaliser dans le temps imparti. Cependant, la séparation au sein du carbone organique particulaire sera effectuée par tri en cytométrie de flux (MIO Marseille), puis filtration sur filtres GF avec le même protocole et les mêmes tailles de filtres que pour la première expérimentation, afin d'estimer séparément le carbone organique particulaire des communautés microbiennes et des algues, ainsi que leurs signatures isotopiques respectives (protocole en cours d'élaboration).

En revanche, nous avons choisi de réaliser des échantillonnages supplémentaires sur les 5 étapes successives de notre expériences pour permettre une analyse ultérieure de la composition des communautés bactériennes totales (gène codant 16 rRNA) et actives (retrotranscription 16S rRNA) par séquençage Illumina dans les différentes conditions expérimentales. Ces analyses seront réalisées en collaboration avec le Laboratoire d'Océanographie Microbienne (UMR 7621, CNRS-UPMC) de Banyuls/mer. En parallèle, nous avons effectué sur les mêmes dates des analyses des profils fonctionnels des communautés microbiennes à l'aide de plaques à 96 puits « Biolog EcoPlate™ » (Biolog Inc., Hayward, CA). Les EcoPlates contiennent trois puits répliqués de 31 sources de carbone et trois témoins négatifs sans substrat. La minéralisation des sources de carbone entraîne une réduction en formazan d'un composé – le tétrazolium – contenu dans chaque puits. Le puits prend alors une coloration violette d'autant plus intense que la respiration est importante. Les plaques ont été inoculées avec 150 μL d'échantillon de culture filtré sur un filtre GF-A de 1,6 μm pour éliminer les chlorelles et les plus gros débris. Pour une plaque, les trois répliqués d'une même condition ont été utilisés.

Les plaques ont été incubées à 20 °C à l'obscurité. La densité optique à 590 nm a été mesurée immédiatement puis après 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120, 132, 156, 180 et 240h en utilisant un lecteur de plaques multi-puits (Spectro Max plus 384, dispositif

moléculaire). Les valeurs des puits de contrôle respectifs ont été soustraites (les valeurs négatives qui en résultaient occasionnellement étaient mises à zéro).

4.2.4 Résultats préliminaires

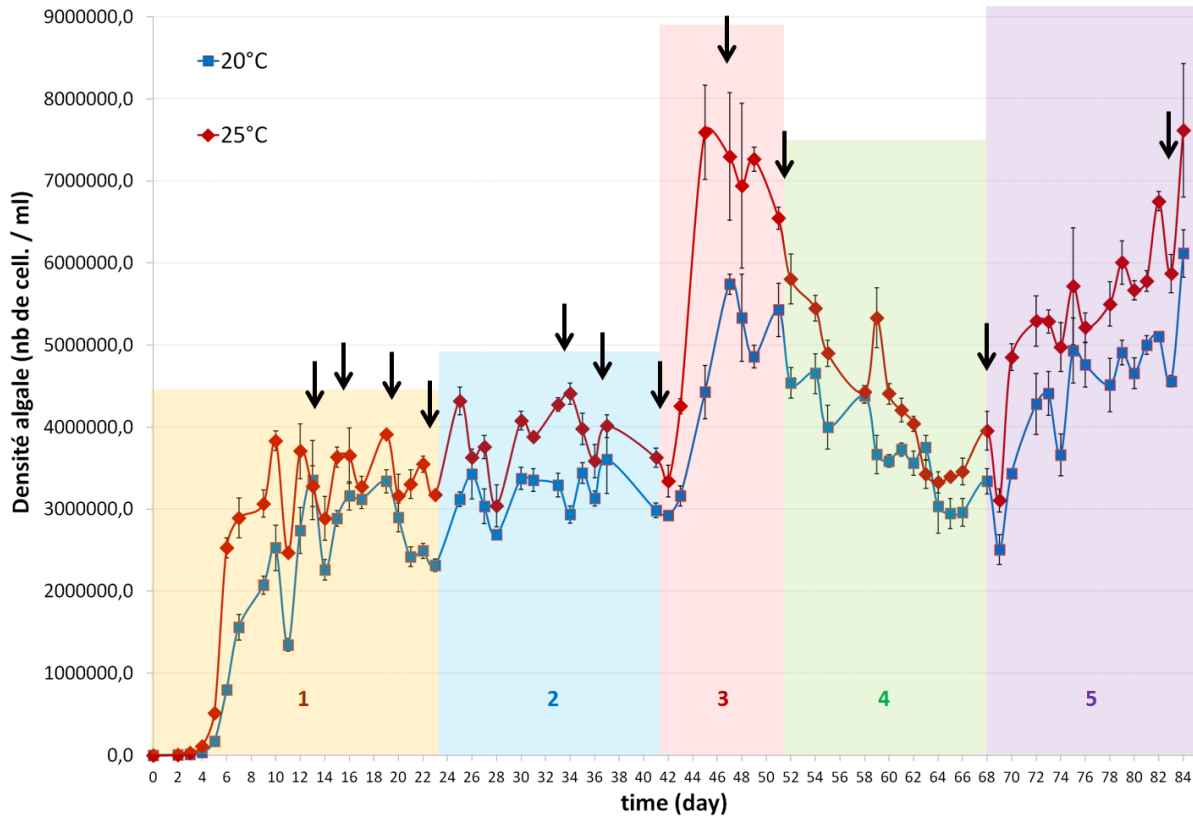


Fig T23 Cinétique des densités algales dans les traitements à 20 et 25°C. Les points représentent la moyenne des résultats obtenus pour 3 réplicats expérimentaux, avec leur erreur standard associée. Les zones de couleur associées aux chiffres correspondent aux différences phases de l'expérimentation, dans lesquelles la stoechiométrie, l'apport en énergie et le système de culture furent testés pour différentes modalités. Les flèches correspondent aux évènements d'échantillonnage pour les 23 paramètres mesurés. Pour chacun de ces évènements d'échantillonnage réalisés de jour, un évènement d'échantillonnage de nuit était réalisé, mais sur un nombre réduit de paramètres jugés pertinents dans cette démarche (i.e. DOC, $DO^{13}C$, DIC, $DI^{13}C$, $^{13}CO_2$).

On peut noter plusieurs résultats d'après cette [figure T23](#) :

- D'un point de vue méthodologique d'abord, les cultures se sont parfaitement bien maintenues sur 84j d'expérimentation, ce qui a permis de tester toujours plus d'hypothèse avec ces systèmes en chémostat.
- La température augmente significativement la densité algale sur l'ensemble de l'expérimentation, mais aussi pour chacune des phases considérées individuellement. Cela suggère un effet fort.

- Les changements d'équilibres stœchiométriques n'ont pas un d'impact notable sur les densités algales.
- A l'inverse, l'apport de glucose a eu un effet considérablement positif sur les densités algales, suggérant, en plus de la mixotrophie, une persistance dans l'interaction positive visiblement établie entre producteurs primaires et décomposeurs.
- Des résultats partiels d'isotopie (non présentés ci) suggèrent que la phase 4 a eu l'effet escompté sur les systèmes. En effet, on a mesuré un retour vers des signatures isotopiques très proche des signatures isotopiques naturelles. La phase finale (5) de batch a donc probablement pu être démarrée sans traces isotopiques résiduelles qui auraient pu fausser la lecture des signaux en les polluants par le vestige des phases passées et/ou par des résidus de paille fortement marqués.

4.2.5 Discussion

Mes premières réflexions porteront sur l'approche expérimentale, qui nous a permis de mener une expérience beaucoup plus complexe que nous ne l'imaginions initialement. Toutes choses égales par ailleurs, les conditions d'équilibre à chaque nouvelle étape sont théoriquement indépendantes des étapes antérieures dans des systèmes en flux continus fonctionnant en mode chémostats. Cela nous a permis de modifier régulièrement les facteurs de contrôle des milieux pour approcher de nouveaux équilibres. Cette approche, qui ne nécessitait pas de relancer une nouvelle expérience à chaque nouvel étape (contrairement à l'approche en blocs plus classique), a très probablement gagné beaucoup de temps (suppression des étapes transitoires de lavage et de stérilisation de l'ensemble du matériel, suppression des phases de croissance exponentielle à partir de cultures à une abondance initiale de $100 \text{ cellules mL}^{-1}$). Elle a aussi fortement réduit les risques d'échec (bris de matériel lors des manipulations des systèmes expérimentaux, risques de contaminations, etc.).

Nous devons malgré tout nous interroger sur l'existence de changements potentiels qui auraient pu faire que les états « stationnaires » à chaque nouvelle étape étaient de plus en plus éloignées des états d'équilibre théoriques. Un risque pourrait être associé à une dérive des communautés microbiennes, par exemple par perte de leur diversité. Nous aurons la possibilité de vérifier d'ici quelques mois cette hypothèse grâce à l'analyse de la diversité des

communautés microbiennes par séquençage qui sera réalisée au LOM à Banyuls/s/mer. Ce risque est faible car les communautés spécifiquement associées aux algues par des relations étroites pouvant aller jusqu'à la symbiose (Guo & Tong 2014) se sont probablement bien maintenues dans les microcosmes compte tenu des très fortes abondances algales observées dans toutes les étapes. Par ailleurs, les apports de paille pré-compostée ayant été renouvelés jusqu'à la fin de l'expérience, il est peu probable qu'une forte dérive des communautés associées ait pu avoir lieu. On peut supposer, en accord avec des articles antérieurs qui démontrent l'effet important des apports allochtones sur la structure des communautés microbiennes (Roiha et al. 2016), que les différentes composantes des communautés ont pu se redévelopper en présence de conditions favorables, même si des conditions moins favorables à l'étape précédente avaient éventuellement fortement réduit leur importance relative.

Par ailleurs, la cinétique de la population algale, en particulier sa très forte croissance observée à plusieurs reprises (notamment en fin d'expérience), démontre l'absence de dérive du système vers des conditions progressivement moins favorables à son maintien, contrairement à ce qui avait été observé dans le cadre de l'expérience préliminaire. Ceci conforte notre hypothèse émise précédemment sur le rôle potentiel de la diversité fonctionnelle de la communauté microbienne dans le fonctionnement global de tels systèmes en flux continu.

Enfin, il sera intéressant de vérifier si l'espèce *Acinetobacter bouvetii*, utilisée par Bianchi et al. (2015) en laboratoire pour démontrer l'existence du PE, s'est maintenue sur les 3 mois d'expérimentation. Cette souche a en effet été ajoutée uniquement au début de notre expérience.

Le second résultat observé est l'effet positif global de l'augmentation de température sur l'abondance algale. Cet effet positif s'est maintenu au cours des 5 étapes de l'expérience. Ces résultats sont en accord avec ceux d'articles antérieurs démontrant l'effet positif de la température sur le taux de photosynthèse à saturation de la lumière, au deçà d'un seuil limite (Baulch et al. 2005). Plusieurs mécanismes, dont une activité enzymatique accrue (Baulch et al. 2005) et une teneur intracellulaire en chlorophylle plus élevée (Davison et al. 1991, O'Neal & Lembi 1995, Baulch et al. 2005), peuvent expliquer cet effet positif. Les

prélèvements destinés à mesurer la teneur en chlorophylle des chlorelles nous permettront de vérifier cette hypothèse. Il ne nous était pas possible d'estimer la biomasse du phytoplancton de manière satisfaisante en cours d'expérience du fait de la présence de matière organique particulaire allochtone. Cependant, les dénombrements de chlorelles qui seront réalisés par cytométrie de flux devraient nous permettre d'accéder à ce paramètre par triage-filtration, ainsi qu'aux variations de taille des cellules algales en fonction des traitements. Notre hypothèse est que la taille des cellules devrait diminuer avec l'augmentation de la température (Daufresne et al. 2009). En supposant que la teneur en carbone des algues est relativement constante, il nous sera possible d'estimer l'effet net résultant sur la biomasse algale.

Nous n'avons encore à ce stade aucune information sur la réponse des communautés des décomposeurs à la température. Nous nous attendons à un effet positif de la température sur les bactéries conformément à l'état de la littérature sur le sujet (page. 37 - 38). Les études réalisées jusqu'ici tendent en effet à démontrer une réponse exponentielle en termes d'activité de minéralisation de la matière organique à l'accroissement de la température (Bergström et al. 2010). Cependant, il sera intéressant de comparer ces réponses entre les différentes étapes de l'expérience. Berggren et al. (2010) ont en effet obtenu, suite à une augmentation de la température, des résultats suggérant que les réponses métaboliques et l'efficacité de croissance des communautés bactériennes étaient fortement dépendantes du statut de limitation des microorganismes par les ressources nutritives.

Mes autres points de réflexion sont associés aux cinq étapes successives de l'expérience. Notre objectif avec les étapes 1 et 2 était de construire des ratio N:P fortement contrastés (ratio molaire N:P = 0,2 vs ratio molaire N:P = 40), en essayant de modifier conjointement les apports de N et de P pour atteindre des abondances algales relativement similaires dans les réacteurs. Cet objectif a été globalement atteint, ce qui devrait faciliter l'interprétation des résultats sur le rôle des contraintes stœchiométriques. Le premier résultat marquant associé à l'étape 3 est bien sûr le doublement des effectifs de *Chlorella* avec l'apport de glucose. L'explication la plus probable de cette réponse, totalement similaire à celle obtenue lors de l'expérience préliminaire, est associée aux fortes capacités d'osmotrophie de *C. vulgaris*. Cependant, il n'est pas encore possible à ce stade d'écarter d'autres hypothèses comme celle d'un métabolisme accru des communautés microbiennes ayant conduit à une

plus grande production de CO₂ (DIC), qui était probablement un facteur essentiel de limitation de la photosynthèse dans ces systèmes fortement alimentés en nutriments dissous (Danger al 2007a). Ainsi les algues auraient pue bénéficier du DIC issu de la minéralisation du glucose par les décomposeurs pour réaliser de façon accrue leur photosynthèse. Le plus probable étant une combinaison entre ces deux voies.

Le principal résultat de l'étape 4 et que les apports continus de paille pré-décomposée et le développement des communautés microbiennes associées n'ont pas affecté les producteurs primaires, puisqu'on les retrouve à ce stade en abondances similaires à celles observées lors de l'étape 1. Le milieu de culture minéral étant caractérisé par un apport d'azote très faible par rapport à celui de phosphore (ratio molaire N:P = 0,2 ; ratio massique N:P = 0,09), une réduction des effectifs du producteur primaire en présence de la communauté microbienne associée à la paille aurait pu être attendue. Cependant, cette absence d'effet négatif est là encore totalement en accord avec des résultats obtenus en microcosmes sur la Chlorococcale *Scenedesmus obliquus* avec le même milieu nutritif et le même ratio N:P (Danger et al. 2007a). Contrairement au fort effet négatif observé après réduction de la proportion de phosphore (Danger et al. 2007a, 2007b), ces auteurs avaient observé que la réduction de l'azote n'avait aucun effet significatif et avaient proposé l'hypothèse que l'activité microbienne est souvent indispensable aux producteurs primaires pour récupérer l'azote, qui peut être étroitement associé à des composés carbonés par des liaisons moléculaires fortes (Vitousek et al. 2002, Knicker 2004). Une hypothèse alternative, que nous pouvons proposer à partir de résultats préliminaires de nos deux expériences, est que les besoins en azote minéral (indispensable pour la synthèse de chlorophylle pour des organismes autotrophes) pourraient être moindres lorsque le producteur primaire est capable de passer à un fonctionnement hétérotrophe (Kamalanathan et al. 2017). Cette aptitude à la mixotrophie pourrait donc avoir de conséquences jusque là négligées dans la compréhension des interactions entre producteurs primaires et décomposeurs.

La dernière étape consistait à passer d'un mode « chémostat » à un mode « batch ». Du fait de contraintes matérielles pour maintenir les expériences et pratiquer les échantillonnages, nous avons dû arrêter l'expérience en phase de croissance, avant l'atteinte d'une phase de plateau en batch. Malgré tout, la forte réduction du turnover (imposé artificiellement par le taux de renouvellement) des organismes aura probablement un effet marqué sur les

caractéristiques du producteur primaire et sur les interactions entre compartiments. Surtout, l'absence de renouvellement quotidien de 20% du milieu est susceptible de permettre une détection plus aisée du PE via l'augmentation du temps de résidence de la matière organique récalcitrante. Ce dernier point pourrait constituer une limite aux approches de type chémostat. Si ces approches en flux continu sont très adaptées au suivi d'organismes à forts taux de renouvellement, elles sont peut-être moins efficaces pour expliquer des processus biogéochimiques beaucoup plus lents comme celui de la dégradation de la matière organique ou, de manière plus pointue encore, le PE avec des organismes prétendument à stratégie K. Cependant, la forte signature isotopique du substrat allochtone devrait théoriquement nous permettre de déceler des variations assez fines en termes de minéralisations de substrats. De plus, il est probable que les lieux et les moments où le PE peut intervenir de manière non négligeable en milieux aquatiques sont spatio-temporellement transitoires (« hot spots » et « hot moments » selon [Guenet et al. 2010](#)). Des systèmes à flux continu sont donc probablement assez adaptés pour décrire les processus en jeu de manière globale.

Enfin, d'autres solutions existent pour résoudre le problème du renouvellement de la matière organique, comme par exemple la mise au point de systèmes de plus grande taille pour obtenir un volume suffisant de substrat permettant de réaliser toutes les analyses nécessaires tout en réduisant le taux de renouvellement, ou l'élaboration de systèmes expérimentaux plus complexes à plusieurs compartiments. Pour le moment, en absence de résultat sur les teneurs en isotopes stables des différents compartiments suivis, il est encore impossible de conclure quant à l'existence de ce mécanisme de PE dans nos systèmes expérimentaux aquatiques, et à sa stimulation éventuelle par les producteurs primaires. Cependant, la cohérence de la démarche expérimentale et théorique, suivie au long des deux expérimentations aquatiques menées au cours de cette thèse, de nous permettre de mettre en évidence son occurrence, ou au contraire son absence, avec un haut degré de confiance.

4.2.6 Perspectives

Les analyses indispensables à la valorisation des deux expériences sont en cours, en collaboration avec 2 équipes du laboratoire iEES Paris, le laboratoire MIO de Marseille, et le laboratoire LOM de Banyuls-sur-Mer. Je ne reviendrai pas sur ces aspects. Les deux expériences devraient amener des informations diversifiées sur les interactions entre producteurs primaires, consommateurs et matière organique, ces informations allant bien au delà du seul PE : interactions entre producteurs primaires et décomposeurs (de la compétition au mutualisme), couplage entre diversité fonctionnelle et diversité génomique, rôle de la stœchiométrie, effets des changements globaux, mixotrophie et cycle du carbone, *etc.*

Pour ce qui concerne plus spécifiquement le PE en milieux aquatiques pélagiques, qu'ils soient marins ou continentaux, la difficulté majeure réside, comme nous l'avons vu précédemment, dans la difficulté de distinguer les flux de carbone entre les différents compartiments. Ceci explique probablement pourquoi la plupart des recherches menées sur le PE aquatique en milieux océaniques ou marins ont été faites jusqu'ici dans des conditions très simplifiées, par exemple sans la présence de populations vivantes de producteurs primaires. Or, l'échelle temporelle des interactions entre les différentes composantes de ces écosystèmes nécessite de les intégrer pour aboutir à un schéma réaliste du cycle du carbone associé et de l'importance potentielle du PE. D'autre part, en systèmes complexes avec des producteurs primaires, des décomposeurs, de la matière organique et des échanges entre compartiments, de nombreux processus peuvent entraîner une discrimination entre le ^{12}C et le ^{13}C , et donc une modification du signal isotopique. En d'autres termes, il est peu probable, sauf à avoir des contrastes extrêmement marqués en termes de PE en fonction des différents traitements, que les résultats de l'expérience sur le couplage entre PE et changements globaux soient facilement interprétables sans être associés à un modèle mathématique décrivant les variations de stocks et de flux entre les différents compartiments et les fractionnements associés (fig. T17, page 108). Un modèle mécaniste est en cours de construction par Bertrand Guenet, Chargé de recherche au sein du Laboratoire des Sciences du Climat et de l'Environnement (LSCE). Il sera paramétré grâce aux données disponibles dans la littérature sur les sources de fractionnement du ^{13}C au sein des réseaux d'interactions aquatiques, et grâce aux données expérimentales obtenues au cours

de l'expérience préliminaire et certains volets de l'expérience sur le PE et les changements globaux. Ces expériences avaient, parmi leurs objectifs, celui d'estimer l'importance potentielle de ces phénomènes et la signification des signaux isotopiques des différents compartiments. Les résultats préliminaires des expériences nous ont déjà amenés à initier des modifications du modèle. Ainsi, les producteurs primaires étaient initialement considérés comme des autotrophes stricts. Compte tenu de nos résultats, une capacité de mixotrophie (osmotrophie pour pouvoir décrire nos expériences, voire phagotrophie pour que le modèle soit utilisable dans un contexte plus général) y a déjà été ajoutée.

Conclusions & perspectives générales

Le priming effect est une vision fondamentalement écologique du cycle du carbone. En effet il repose sur la notion d'interactions, interactions entre molécules, peut-être entre voies métaboliques, et de toutes façons interactions entre des communautés de microorganismes du sol qui, du fait de leur isolement spatial, sont confrontées à des conditions environnementales extrêmement différentes les unes des autres, aussi bien en termes de contraintes que de ressources, conditions qui leur sont finalement assez rarement favorables. Cet isolement fonctionnel est sans doute un frein puissant à l'activité biologique du sol, frein qui peut être levé, entre autres, par le priming effect. Il y a donc fort à parier que le priming effect est un processus très général que l'on rencontre dans tous les types de sols, sous tous les types d'écosystèmes.

L'un de nos résultats les plus clairs est la confirmation que la qualité de la matière organique apportée est un déterminant majeur du priming effect. Sur le terrain, cela signifie que des débris végétaux plus ou moins décomposés peuvent engendrer des priming effects plus ou moins forts. Vu du côté des sociétés humaines qui cherchent à préserver et restaurer la fertilité des sols et à atténuer l'ampleur du changement climatique, le priming effect, c'est à dire l'équilibre entre le stockage et le déstockage de la matière organique dans les sols, apparaît comme un processus facilement manipulable, à tout le moins dans les écosystèmes agricoles. Nous avons clairement démontrés dans notre travail qu'il existe un potentiel de réduction, voir d'annulation ou d'inversion de la perte des sols en matière organique par pilotage du priming effect via une gestion différenciée des résidus végétaux, ou éventuellement d'autres types de matière organique (résidus urbains, digestats de méthanisation, etc.). Un travail de modélisation orienté bilan est évidemment à entreprendre pour préciser la dynamique de la possible « recharge » des sols en carbone via la réduction du priming effect.

L'un des objectifs de cette thèse était de contribuer à une meilleure appréhension de la genericité du priming effect dans tous les milieux, terrestres et aquatiques, et c'est pour cette raison que nous avons établi des protocoles aussi proches que possible l'un de l'autre. Il n'a été que partiellement atteint du fait des problèmes méthodologiques et logistiques que nous avons rencontrés, mais nous restons convaincus que le priming effect est bien la

réponse du vivant à deux logiques fondamentales, la nécessité de ne pas perdre plus d'énergie qu'on en gagne, et la nécessité de maintenir son équilibre stœchiométrique, que l'on soit en milieu terrestre ou en milieu aquatique. Cette recherche de généralité comme l'approfondissement de la théorie du PE en milieu aquatique nous semble une priorité afin de déterminer dans quelle mesure le priming effect doit être intégré dans les modèles de changements globaux. L'enjeu est de taille puisqu'il s'agit rien de moins que d'élucider le devenir du carbone terrestre en milieu aquatique, notamment marin, et d'approfondir par conséquent notre compréhension de l'interface atmosphère-océan. En eau douce, la prise en compte explicite du PE, notamment dans sa dimension stœchiométrique, devrait permettre de mieux anticiper les dynamiques d'eutrophisation.

Au delà de la théorie et des aspects globaux, il y aurait sans doute beaucoup à gagner de l'introduction du PE dans des modèles plus mécanistes de dynamique du carbone, probablement avec des modalités différentes selon que le modèle est conçu pour prédire des tendances (par exemple la réponse de la matière organique du sol au changement de végétation engendré par le changement climatique) ou pour tester la pertinence de stratégies d'action (par exemple les modalités de gestion des résidus agricoles comme outil de restauration de la qualité des sols). Un effort devrait être rapidement mené pour tester l'intensité (ainsi que le signe) du priming effect engendré dans des contextes stœchiométriques et énergétiques différenciés, tant dans des milieux aquatiques que dans des sols variés.

Mais, en milieu terrestre et singulièrement en milieu agricole, il s'agit aussi de passer du potentiel au réel tout de suite, c'est à dire d'estimer ce qui est réalisable dans le contexte de l'exploitation agricole. Outre la nécessité de tester toute une gamme de matières organiques, il faut maintenant déterminer comment intégrer la gestion du priming effect dans les itinéraires techniques et dans l'économie de l'exploitation. Concrètement, il s'agit de mettre en place des protocoles de terrain sur cinq ans au moins qui croiseront les effets du degré de décomposition de divers types de matériaux, des dates d'enfouissement (si enfouissement il y a), de la fertilisation, de la dynamique des plantes de couverture, etc. En d'autres termes, une recherche qui permettra de « minéraliser » le potentiel en un protocole réaliste par rapports aux conditions socio-économiques actuelles et aux urgences écologiques absolues.

Références bibliographiques

(296 références)

- Ainsworth, E.A. & Long, S.P., 2004. What have we learned from 15 years of free-air CO₂ enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis , canopy properties and plant production to rising CO₂. *New Phytologist*, 164, pp.351–372.
- Allen, A.P. & Gillooly, F., 2009. Towards an integration of ecological stoichiometry and the metabolic theory of ecology to better understand nutrient cycling. *Ecology letters*, 12, pp.369–384.
- Amon, R.M.W. & Benner, R., 1996. Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography*, 41(1), pp.41–51.
- Anav, A. et al., 2013. Evaluating the Land and Ocean Components of the Global Carbon Cycle in the CMIP5 Earth System Models. *journal of climate*, 26, pp.6801–6843.
- Arrhenius, S., 1896. On the Influence of Carbonic Acid in the Air upon the Temperature of the Ground. *the London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, 41, pp.237–276.
- Arrow, K. et al., 1995. Economic Growth , Carrying Capacity , and the Environment. *Science*, 268, pp.520–521.
- Mac Arthur, R.H. & Wilson, E.O., 1967. the theory of island biogeography.pdf. *princeton university press*.
- Bardgett, R.D., Freeman, C. & Ostle, N.J., 2008. Microbial contributions to climate change through carbon cycle feedbacks. *international society for microbial ecology*, pp.805–814.
- Barré, P. et al., 2017. Geological control of soil organic carbon and nitrogen stocks at the landscape scale. *Geoderma*, 285(January), pp.50–56. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2016.09.029>.
- Barré, P. et al., 2010. Quantifying and isolating stable soil organic carbon using long-term bare fallow experiments. *Biogeosciences*, pp.3839–3850. Available at: www.biogeosciences.net/7/3839/2010/.
- Bates, B. et al., 2008. *Climate change and water - IPCC Technical Paper VI*,
- Batjes, N.H. & Sombroek, W.G., 1997. Possibilities for carbon sequestration in tropical and. *Global Change Biology*, 3, pp.161–173.
- Baulch, H.M. et al. 2005.Effects of warming on benthic communities in a boreal lake: Implications of climate change. *Limnology and Oceanography*, 50(5), pp.1377–1392.

- Baveye, P.C. et al., 2018. Geoderma. *Geoderma*, 309(June 2017), pp.118–123.
- Beedlow, P.A. et al., 2004. Rising atmospheric CO₂ and carbon H. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2(6), pp.315–322. Available at: <http://www.jstor.org/stable/3868407>.
- Bengtsson, M.M. et al., 2014. No evidence of aquatic priming effects in hyporheic zone microcosms. *Scientific reports*, 4, p.5187. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4046132&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed June 8, 2014].
- Bengtsson, M.M., Attermeyer, K. & Catalán, N., 2018. Interactive effects on organic matter processing from soils to the ocean: are priming effects relevant in aquatic ecosystems? *Hydrobiologia*.
- Benton, T.G. et al., 2007. Microcosm experiments can inform global ecological problems. *Trends in Ecology and Evolution*, 22(10), pp.516–521.
- Bergström, I. et al., 2010. Effects of temperature and sediment properties on benthic CO₂ production in an oligotrophic boreal lake. *Freshwater Biology*, 55, pp.1747–1757.
- Berggren, M. et al., 2010. Nutrient constraints on metabolism affect the temperature regulation of aquatic bacterial growth efficiency. *Microbial Ecology*, 60, pp.894–902.
- Bianchi, T.S. et al., 2015. Positive Priming of Terrestrially-Derived Dissolved Organic Matter in a Freshwater Microcosm System. *Geophysical Research Letters*, 42(13).
- Bianchi, T.S. et al., 2015. Positive priming of terrestrially derived dissolved organic matter in a freshwater microcosm system. *Geophysical Research Letters*, p.n/a-n/a. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/2015GL064765>.
- Bianchi, T.S., 2011. The role of terrestrially derived organic carbon in the coastal ocean: A changing paradigm and the priming effect. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(49), pp.19473–19481.
- Bingeman, C.W., 1953. THE EFFECT OF THE ADDITION OF ORGANIC MATERIALS ON THE DECOMPOSITION OF AN ORGANIC SOIL. *Soil Science Society America Proceedings*, 29, pp.692–696.
- Birch, H.F., 1958. The effect of soil drying on humus decomposition and nitrogen availability. *Plant and Soil*, (1).
- Blagodatskaya, E. & Kuzyakov, Y., 2008. Mechanisms of real and apparent priming effects and their dependence on soil microbial biomass and community structure: Critical review. *Biology and Fertility of Soils*, 45(2), pp.115–131.
- Blair, N. et al., 1985. Carbon Isotopic Fractionation in Heterotrophic Microbial Metabolism. , 50(4), pp.996–1001.
- Bottner, P. et al., 1998. Decomposition of ¹⁴C- and ¹⁵N-labelled plant material, under controlled conditions, in coniferous forest soils from a north-south climatic sequence in

- western Europe. *Soil Biology & Biochemistry*, 30(5), pp.597–610.
- Bradford, M.A. et al., 2016. Managing uncertainty in soil carbon feedbacks to climate change. *Nature Climate Change*, 6(8), pp.751–758. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nclimate3071>.
- Bradford, M.A., Grandy, A.S. & Schmitz, O.J., 2017. REVIEW AND Applying population and community ecology theory to advance understanding of belowground biogeochemistry. , pp.231–245.
- Broadbent, F.E. & Norman, A.G., 1946. Some Factors Affecting the Availability of the Organic Nitrogen In Soil—A Preliminary Report. *Soil Science Society America Proceedings*, pp.264–267.
- Cambarella, C.A., 2005. Formation and Decomposition. *Encyclopedia of Soils in the Environment*, (2004), pp.170–175.
- Carlson, C.A. et al., 2002. Effect of nutrient amendments on bacterioplankton production , community structure , and DOC utilization in the northwestern Sargasso Sea. , 30, pp.19–36.
- Carpenter, S.R. et al., 2005. Ecosystem Subsidies : Terrestrial Support of Aquatic Food Webs from 13C Addition to Contrasting Lakes. *Ecology*, 86(10), pp.2737–2750.
- Carpenter, S.R., 1996. Microcosm Experiments have Limited Relevance for Community and Ecosystem Ecology. *Ecology*, 77(3), pp.677–680.
- Carvalho, M.C. De, Hayashizaki, K. & Ogawa, H., 2010. TEMPERATURE EFFECT ON CARBON ISOTOPIC DISCRIMINATION BY UNDARIA PINNATIFIDA (PHAEOPHYTA) IN A CLOSED EXPERIMENTAL SYSTEM 1. , 1186, pp.1180–1186.
- Cassman, K.G. & Munns, D.N., 1980. DIVISION S-3 — SOIL MICROBIOLOGY AND BIOCHEMISTRY. *Soil Science Society of America Journal*, 44, pp.1233–1237.
- Cerling, T.E. & Quade, J., 1984. Stable Carbon and Oxygen Isotopes in Soil Carbonates. *Earth and Planetary science letters*.
- Chapman, Edwards & Shand, 1997. The phosphorus composition of soil solutions and soil leachates: Influence of soil: solution ratio. *European Journal of Soil Science*, (December), pp.703–710.
- Chappell, A. et al., 2012. The dynamics of soil redistribution and the implications for soil organic carbon accounting in agricultural south-eastern Australia. *Global Change Biology*, 18, pp.1–8.
- Chemidlin Prévost-Bouré, N. et al., 2010. Increase in aboveground fresh litter quantity overstimulates soil respiration in a temperate deciduous forest. *Applied Soil Ecology*, 46(1), pp.26–34. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0929139310000909> [Accessed May 28, 2014].

- Chen, R. et al., 2014. Soil C and N availability determine the priming effect: Microbial N mining and stoichiometric decomposition theories. *Global Change Biology*, 20(7), pp.2356–2367.
- Chen, S. et al., 2015. CO₂ emissions from a forest soil as influenced by amendments of different crop straws : Implications for priming effects. *Catena*, 131, pp.56–63. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.catena.2015.03.016>.
- Cheng, W., 1996. Measurement of rhizosphere respiration and organic matter decomposition using natural ¹³C. *Plant and Soil*, pp.263–268.
- Chenu, C. et al., 2018. Increasing organic stocks in agricultural soils : Knowledge gaps and potential innovations. *Soil & Tillage Research*, (April), pp.0–1. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.still.2018.04.011>.
- Chenu, C. & Plante, A.F., 2006. Clay-sized organo-mineral complexes in a cultivation chronosequence : revisiting the concept of the ‘ primary organo-mineral complex .’ *European Journal of Soil Science*, 57, pp.596–607.
- Chikaraishi, Y., Naraoka, H. & Poulson, S.R., 2004. Hydrogen and carbon isotopic fractionations of lipid biosynthesis among terrestrial (C₃ , C₄ and CAM) and aquatic plants. *phytochemistry*, 65, pp.1369–1381.
- Cifci, E. & Oliver, M.E., 2018. Reassessing the Links between GHG Emissions , Economic Growth , and the UNFCCC : A Difference-in-Differences Approach. *sustainability*, 10(334). Available at: <http://www.mdpi.com/2071-1050/10/2/334>.
- Clarholm, M., 1985a. Possible role for roots, bacteria, protozoa and fungi in supplying nitrogen to plants. In: Fitter, A.H. (Ed.), *Ecological Interactions in Soil*. Blackwell, Oxford, pp. 355±365.
- Cleveland, C.C. & Liptzin, D., 2007. C : N : P stoichiometry in soil : is there a “ Redfield ratio ” for the microbial biomass ? *Biogeochemistry*, 85, pp.235–252.
- Cole, J.J. et al., 2006. Differential support of lake food webs by three types of terrestrial organic carbon. *Ecology Letters*, 9, pp.558–568.
- Cole, J.J. et al., 2007. Plumbing the Global Carbon Cycle : Integrating Inland Waters into the Terrestrial Carbon Budget. *Ecosystems*, 10, pp.171–184.
- Collins S. R. A., N. Wellner, I. M. Bordonado, A. L. Harper, C. N. Miller, I. Bancroft, K. W. Waldron, Variation in the chemical composition of wheat straw: the role of tissue ratio and composition. *Biotechnol. biofuels* 7, 121–134 (2014).
- Conant, R.T. et al., 2011. Temperature and soil organic matter decomposition rates – synthesis of current knowledge and a way forward. *Global Change Biology*, pp.3392–3404.
- CONANT, R.T. et al., 2008. EXPERIMENTAL WARMING SHOWS THAT DECOMPOSITION R eports. *Ecology*, 89(9), pp.2384–2391.

- Conley, D.J. et al., 2017. Controlling Eutrophication : Nitrogen and Phosphorus. *science*, 232, pp.1014–1015.
- Coûteaux, M. et al., 2001. Decomposition of 13 C-labelled standard plant material in a latitudinal transect of European coniferous forests : Differential impact of climate on the decomposition of soil organic matter compartments. *Biogeochemistry*, pp.147–170.
- Craine, J.M., Fierer, N. & Mclauchlan, K.K., 2010. Widespread coupling between the rate and temperature sensitivity of organic matter decay. *Nature Geoscience*, 3(12), pp.854–857. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/ngeo1009>.
- Currie, D.J. & Kalff, J., 1984. A comparison of the abilities of freshwater algae and bacteria to acquire and retain phosphorus. *Limnology and Oceanography*, pp.29, 298–310.
- Curiel Yuste, J. et al., 2007. Microbial soil respiration and its dependency on carbon inputs , soil temperature and moisture. *Global Change Biology*, 13, pp.1–18.
- Dalenberg, J.W. & Jager, G., 1989. PRIMING EFFECT OF SOME ORGANIC TO “ C-LABELLED SOIL ADDITIONS. *Soil Biology & Biochemistry*, 21(3), pp.443–448.
- Danger, M. et al., 2007. Bacteria Can Control Stoichiometry and Nutrient Limitation of Phytoplankton Published by : British Ecological Society Linked references are available on JSTOR for this article : Bacteria can control stoichiometry and nutrient limitation of phytoplankton. *Functional Ecology*, 21(2), pp.202–210.
- Danger, M. et al., 2007a. Control of phytoplankton-bacteria interactions by stoichiometric constraints. *Oikos*, 116, pp.1079–1086.
- Danger, M. et al., 2007b. Bacteria can control stoichiometry and nutrient limitation of phytoplankton. *Functional Ecology*, 21, pp.202–210.
- Danger, M. et al., 2016. Benthic algae stimulate leaf litter decomposition in detritus-based headwater streams : a case of aquatic priming effect ? *Ecology*, 94(7), pp.1604–1613.
- Danger, M., Daufresne, T. & Pissard, S., 2008. Does Liebig ’ s law of the minimum scale up from species to communities ? *Oikos*, 117(June), pp.1741–1751.
- Danger, M. et al., 2013. Benthic algae stimulate leaf litter decomposition in detritus-based headwater streams: a case of aquatic priming effect? *Ecology*, 94, pp.1604–1613.
- Daufresne, T. & Loreau, M., 2001. Ecological stoichiometry, indirect interactions between primary producers and decomposers, and the persistence of ecosystems. *Ecology* ,82, pp.3069–3082.
- Daufresne, T. et al., 2008. Coexistence of algae and bacteria: a test of the carbon hypothesis. *Aquatic Microbial Ecology*, 53(3), pp.323–332.
- Daufresne, M. et al., 2009. Global warming benefits the small in aquatic ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, pp.12788–12793.

- Davison, I.R., 1991. Environmental effects on algal photosynthesis: Temperature. *Journal of Phycology*, 27, pp.2–8.
- Davidson, E.A. & Janssens, I.A., 2006. Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature*, 440(March).
- Derrien, D. et al., 2014. Does the addition of labile substrate destabilise old soil organic matter? *Soil Biology and Biochemistry*, 76, pp.149–160. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0038071714001606> [Accessed November 4, 2014].
- De Deyn, G.B. et al., 2008. REVIEW AND Plant functional traits and soil carbon sequestration in contrasting biomes. *Ecology letters*, 11, pp.516–531.
- de Vries, W., Soil carbon 4 per mille: a good initiative but let's manage not only the soil but also the expectations – Comment on Minasny et al. (2017) *Geoderma* 292: 59–86. *Geoderma* 292, 59–86 (2017).
- Diacono, M. & Montemurro, F., 2010. Long-term effects of organic amendments on soil fertility . A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 30, pp.401–422. Available at: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00886539>.
- Dighton, J., Giller, K.E. (Eds.), *Beyond the Biomass: Compositional and Functional Analysis of Soil Microbial Communities*. Wiley, Chichester, pp. 173±180.
- Dignac, M. et al., 2017. Increasing soil carbon storage : mechanisms , effects of agricultural practices and proxies . A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37(14).
- Dijkstra, F.A. et al., 2013. Rhizosphere priming: a nutrient perspective. *Frontiers in Microbiology*, 4(216), pp.1–8.
- Dilly, O. & Zyakun, A., 2008. Priming Effect and Respiratory Quotient in a Forest Soil Amended with Glucose. *Geomicrobiology Journal*, 25(7–8), pp.425–431. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01490450802403099> [Accessed November 15, 2014].
- Dimassi, B. et al., 2014. Effect of nutrients availability and long-term tillage on priming effect and soil C mineralization. *Soil Biology and Biochemistry*, 78, pp.332–339. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0038071714002569> [Accessed October 24, 2014].
- Elser, J.J. et al., 1996. Size , and Life Stoichiomet Toward a unified view of cellular and ecosystem processes. *BioScience*, 46(9), pp.674–684.
- Falkowski, A.P. et al., 2000. The Global Carbon Cycle : A Test of Our Knowledge of Earth as a System. *science*, 290(5490), pp.291–296.
- Falkowski, P., 2007. The Global Carbon Cycle: A Test of Our Knowledge of Earth as a System. *Science*, 290(5490), pp.291–296.

- Fang, Y., Singh, B. & Pal, B., 2015. Effect of temperature on biochar priming effects and its stability in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 80, pp.136–145. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.10.006>.
- Farjalla, V. et al., 2009. Synergy of fresh and accumulated organic matter to bacterial growth. *Microbial ecology*, 57(4), pp.657–66.
- Feng, D., Bao, W. & Pang, X., 2017. Consistent profile pattern and spatial variation of soil C / N / P stoichiometric ratios in the subalpine forests. *Journal of Soils and Sediments*, 17, pp.2054–2065.
- Fierer, N. et al., 2005. LITTER QUALITY AND THE TEMPERATURE SENSITIVITY OF DECOMPOSITION. *Ecology*, 86(2), pp.320–326.
- Fierer, N., Bradford, M.A. & Jackson, R.B., 2007. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*, 88(6), pp.1354–1364.
- Foley, J.A. et al., 2005. Global Consequences of Land Use. *science*, 8(July), pp.570–575.
- Fontaine, S. et al., 2004. Carbon input to soil may decrease soil carbon content. *Ecology Letters*, 7(4), pp.314–320. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1461-0248.2004.00579.x> [Accessed August 22, 2014].
- Fontaine, S. et al., 2011. Fungi mediate long term sequestration of carbon and nitrogen in soil through their priming effect. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(1), pp.86–96. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.09.017>.
- Fontaine, S. et al., 2007. Stability of organic carbon in deep soil layers controlled by fresh carbon supply. *Nature letters*, (December).
- Fontaine, S., Mariotti, A. & Abbadie, L., 2003. The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biology and Biochemistry*, 35(6), pp.837–843. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0038071703001238> [Accessed July 14, 2014].
- Franke, D., Bonnell, E.J. & Ziegler, S.E., 2013. Mineralisation of dissolved organic matter by heterotrophic stream biofilm communities in a large boreal catchment. *Freshwater Biology*, 58(10), pp.2007–2026.
- Freibauer, A. et al., 2004. Carbon sequestration in the agricultural soils of Europe. *geod*, 122, pp.1–23.
- Friedlínfstein, P. et al., 2006. Climate – Carbon Cycle Feedback Analysis : Results from the C 4 MIP Model Intercomparison. *journal of climate*, 19, pp.3337–3353.
- Frøseth, R.B. & Bleken, M.A., 2015. Effect of low temperature and soil type on the decomposition rate of soil organic carbon and clover leaves , and related priming effect. *Soil Biology and Biochemistry*, 80, pp.156–166. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.10.004>.

- Fu, S. & Cheng, W., 2002. Rhizosphere priming effects on the decomposition of soil organic matter in C 4 and C 3 grassland soils. *Plant and Soil*, 238, pp.289–294.
- Fujisaki K., T. Chevallier, L. Chapuis-Lardy, A. Albrecht, T. Razafimbelo, D. Masse, Y. B. Ndoure, J.-L. Chotte, Soil carbon stock changes in tropical croplands are mainly driven by carbon inputs: A synthesis. *Agric. Ecosys. Environ.* **259**, 147–158 (2018).
- Ghee, C. et al., 2013. Priming of soil organic matter mineralisation is intrinsically insensitive to temperature. *Soil Biology and Biochemistry*, 66, pp.20–28. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0038071713002307> [Accessed November 10, 2014].
- Ghyoot, C. et al., 2017. Introducing mixotrophy into a biogeochemical model describing an eutrophied coastal ecosystem: The Southern North Sea. *Progress in Oceanography*, 157, pp.1–11.
- Grandy S. G., J. C. Neff, Molecular C dynamics downstream: The biochemical decomposition sequence and its impact on soil organic matter structure and function. *Sci. Tot. Env.* 404, 297–307 (2008).
- Gregorich, E.G. et al., 2016. Litter decay controlled by temperature, not soil properties, affecting future soil carbon. *Global Change Biology*.
- Griffths, B.S., 1994. Soil nutrient flow. In: Darbyshire, J.F. (Ed.), *Soil Protozoa*. CAB International, Wallingford, pp. 65±92.
- Gudasz, C. et al., 2010. Temperature-controlled organic carbon mineralization in lake sediments. *Nature*, 466(7305), pp.478–481. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nature09186>.
- Guenet, B. et al., 2012. Evidence that stable C is as vulnerable to priming effect as is more labile C in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 52, pp.43–48. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003807171200137X> [Accessed November 15, 2014].
- Guenet, B. et al., 2014. Fast mineralization of land-born C in inland waters: first experimental evidences of aquatic priming effect. *Hydrobiologia*, 721(1), pp.35–44. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s10750-013-1635-1> [Accessed November 12, 2014].
- Guenet, B. et al., 2018. Impact of priming on global soil carbon stocks. *Global Change Biology*.
- Guenet, B. et al., 2010. Priming effect: bridging the gap between terrestrial and aquatic ecology. *Ecology*, 91(10), pp.2850–2861.
- Guenet, B. et al., 2013. The relative importance of decomposition and transport mechanisms in accounting for soil organic carbon profiles. *Biogeosciences*, 10(4), pp.2379–2392.

- Guillou, C. Le et al., 2012. Linking microbial community to soil water-stable aggregation during crop residue decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, 50, pp.126–133. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.03.009>.
- Guo, L.B. & Gifford, R.M., 2002. Soil carbon stocks and land use change : a meta analysis. *Global Change Biology*, pp.345–360.
- Guo, Z. & Tong, Y.W., 2014. The interactions between *Chlorella vulgaris* and algal symbiotic bacteria under photoautotrophic and photoheterotrophic conditions. *Journal of Applied Phycology*, 26, pp.1483–1492.
- De Haan, H., 1977. Effects of benzoate on microbial decomposition of fulvi acids in Tjeukemeer (The Netherlands). *Limnology and Oceanography*, 22(January), pp.38–44.
- Halvorson, H.M. et al., 2016. Light and dissolved phosphorus interactively affect microbial metabolism , stoichiometry and decomposition of leaf litter. *Freshwater Biology*, 61, pp.1006–1019.
- Hamer, U. & Marschner, B., 2005. Priming effects in soils after combined and repeated substrate additions. *Geoderma*, 128, pp.38–51.
- Han X., C. Xu, J. A. J. Dungait, R. Bol, X. Wang, W. Wu, F. Meng, Straw incorporation increases crop yield and soil organic carbon sequestration but varies under different natural conditions and farming practices in China: a system analysis. *Biogeosciences* **15**, 1933–1946 (2018).
- Hartley, I.P. & Ineson, P., 2008. Substrate quality and the temperature sensitivity of soil organic matter decomposition. *Soil Biology & Biochemistry*, 40, pp.1567–1574.
- Hassink J., The capacity of soils to preserve organic C and N by their association with clay and silt particles. *Plant Soil* **191**, 77–87 (1997).
- Haynes R. J., R. Naidu, Influence of lime, fertilizer and manure applications on soil organic matter content and soil physical conditions: a review. *Nutr. Cycl. Agroecosys.* 51, 123–137, (1998).
- He, Y. et al., 2016. Radiocarbon constraints imply reduced carbon uptake by soils during the 21st century. *Science*, 353(6306), pp.1419–1424.
- Heimann, M. & Reichstein, M., 2008. Terrestrial ecosystem carbon dynamics and climate feedbacks. *Nature*, 451(January), pp.289–292.
- Himmel M. E., S.-Y. Ding, D. K. Johnson, W. S. Adney, M. R. Nimlos, J. W. Brady, T. D. Foust, Biomass recalcitrance: engineering plants and enzymes for biofuels production. *Science* **315**, 804–807 (2007).
- Högberg Read, D.J., 2006. Towards a more plant physiological perspective on soil ecology. *Trends in Ecology and Evolution*, 21(10).
- Hung, L. & Trappe, J.M., 1983. Mycological Society of America GROWTH VARIATION

- BETWEEN AND WITHIN SPECIES OF ECTOMYCORRHIZAL FUNGI IN RESPONSE TO pH IN VITRO. , 75(2), pp.234–241. Available at: <http://www.jstor.org/stable/3792807>.
- Jenkinson, D.S., Fox, R.H. & Rayner, J.H., 1985. Interactions between fertilizer nitrogen and soil nitrogen-the so-called 'priming' effect. *Journal of soil science*, 36, pp.425–444.
- Jiang, P., Chen, Y. & Cao, Y., 2017. C : N : P Stoichiometry and Carbon Storage in a Naturally-Regenerated Secondary *Quercus variabilis* Forest Age Sequence in the Qinling Mountains , China. *forests*, 8(281), pp.1–17.
- Jiao, N. et al., 2010. Microbial production of recalcitrant dissolved organic matter: long-term carbon storage in the global ocean. *Nature Reviews*, 8, pp.593–599. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2386>.
- Jobbágy, E.G. & Jackson, R.B., 2000. The vertical distribution of soil organic carbon and its relation to climate and vegetation. *Ecological Applications*, 10(2), pp.423–436.
- Johnson, D. et al., 2002. In situ ^{13}C pulse-labelling of upland grassland demonstrates a rapid pathway of carbon flux from arbuscular mycorrhizal mycelia to the soil. *New Phytologist*, 153, pp.327–334.
- Johnson J. M. F., D. Reicosky, B. Sharratt, M. Lindstrom, W. Voorhees, L. Carpenter-Boggs, Characterization of soil amended with the by-Product of corn stover fermentation. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68, 139–147 (2004).
- Joint, I. et al., 2002. Competition for inorganic nutrients between phytoplankton and bacterioplankton in nutrient manipulated mesocosms. *Aquatic Microbial Ecology*, 29, pp.145–159.
- Kamalanathan, M. et al., 2017. Photosynthetic physiology of *Scenedesmus* sp. (Chlorophyceae) under photoautotrophic and molasses-based heterotrophic and mixotrophic conditions. *Phycologia*, 56(6), pp.666–674.
- Kallenbach, C. & Grandy, A.S., 2011. Agriculture , Ecosystems and Environment Controls over soil microbial biomass responses to carbon amendments in agricultural systems : A meta-analysis. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 144(1), pp.241–252. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2011.08.020>.
- Keiluweit, M. et al., 2015. Mineral protection of soil carbon counteracted by root exudates. *Nature Climate Change* | DOI: 10.1038/NCLIMATE2580
- Kellerman, A.M. et al., 2015. Absence of a priming effect on dissolved organic carbon degradation in lake water. , (Kuzyakov 2010), pp.159–168.
- Kilham, S.S. et al., 1998. COMBO: A defined freshwater culture medium for algae and zooplankton. *Hydrobiologia*, 377, pp.147–159.
- Kirschbaum, M.U.F., 1995. THE TEMPERATURE DEPENDENCE OF SOIL ORGANIC MATTER DECOMPOSITION , AND THE EFFECT OF GLOBAL WARMING ON SOIL ORGANIC C STORAGE. *Soil Biology & Biochemistry*, 27(6), pp.753–760.

- Kirschbaum, M.U.F., 2000. Will changes in soil organic carbon act as a positive or negative feedback on global warming ? *Biogeochemistry*, 48, pp.21–51.
- Kirschbaum, U.M.F., 2006. The temperature dependence of organic-matter decomposition — still a topic of debate. *Soil Biology & Biochemistry*, 38(2006), pp.2510–2518.
- Kleber, M. et al., 2011. Old and stable soil organic matter is not necessarily chemically recalcitrant : implications for modeling concepts and temperature sensitivity. *Global Change Biology* 17, 17, pp.1097–1107.
- Knicker, H., 2004. Stabilization of N-compounds in soil and organic matter rich sediment-what is the difference? *Marine Chemistry*, 92, pp.167–195.
- Kramer, M.G., Lajtha, K. & Aufdenkampe, A.K., 2017. Depth trends of soil organic matter C : N and ^{15}N natural abundance controlled by association with minerals. *Biogeochemistry*, 136(3), pp.237–248.
- Kraus, T.E.C., Dahlgren, R.A. & Zasoski, R.J., 2003. Tannins in nutrient dynamics of forest ecosystems - a review. *Plant and Soil*, 256, pp.41–66.
- Krause, A.S. et al., 2017. Ecohydrological interfaces as hotspots of ecosystem processes. *water resources research*, 53(18). Available at: <https://agupubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/2016WR019516>.
- Kuehn, K.A. et al., 2014. Priming in the microbial landscape : periphytic algal stimulation of litter-associated microbial decomposers. *Ecology*, 95(3), pp.749–762.
- Kuypers, Marcel M. M. Richard, D.P. & Sinninghe Damste, J.S., 1999. A large and abrupt fall in atmospheric CO₂ concentration during Cretaceous times. *Nature*, 399(May), pp.342–345.
- Kuzyakov, Y., 2010. Priming effects: Interactions between living and dead organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(9), pp.1363–1371. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0038071710001355> [Accessed July 10, 2014].
- Kuzyakov, Y., Friedel, J.K. & Stahr, K., 2000. Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biology & Biochemistry*, 32, pp.1485–1498.
- Kuzyakov, Y., Friedel, J.K. & Stahr, K., 2000. Review of mechanisms and quantification of priming effects (Review). *Soil Biology & Biochemistry*, 32, p.1485±1498.
- Lal, World crop residues production and implications of its use as a biofuel. *Environ. Int.* 31, 575– 584 (2005).
- Lal, Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma* 123, 1 –22 (2004).
- Lal, R., 2006. Enhancing crop yields in the developing countries through restoration of the Soil organic carbon pool in agricultural lands. *land degradation & development*, 17(August 2005), pp.197–209.

- Lal, R., 2004. Soil Carbon Sequestration Impacts on Global Climate Change and Food Security. , 304(June).
- Lal, R., 2005. Soil erosion and carbon dynamics. *Soil & Tillage Research*, 81, pp.137–142.
- Lal, R., 2003. Soil erosion and the global carbon budget. *Environment International*, 29, pp.437–450.
- Lal, R. & Pimentel, D., 2008. Soil Erosion: A Carbon Sink or Source? *science*.
- Lal, Digging deeper: A holistic perspective of factors affecting soil organic carbon sequestration in agroecosystems. *Glob. Change Biol.* **24**, 3285–3301 (2018).
- Lal, W. Negassa, K. Lorenz, Carbon sequestration in soil. *Curr. Opin. Environ. Sustain.* **15**, 79–86 (2015).
- Lauber, C.L. et al., 2010. Effect of storage conditions on the assessment of bacterial community structure in soil and human-associated samples. *FEMS Microbiology Letters*, 307(1), pp.80–86.
- Lavelle, P. et al., 2001. SOM management in the tropics : Why feeding the soil macrofauna ? *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 61, pp.53–61.
- Lavelle, P., Lattaud, D., Trogo, D., Barois, I., 1995. Mutualism and biodiversity in soils. *Plant and Soil* 170, 23±33.
- Lavelle, P., Gilot, C., 1994. Priming effect of macroorganisms on micro-ora: a key process of soil function? In: Ritz, K.J.,
- Lee, S. & Brown, M.T., 2011. Understanding self-organization of ecosystems under disturbance using a microcosm study. *Ecological Engineering*, 37(11), pp.1747–1756. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2011.07.009>.
- Lefèvre, R. et al., 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, pp.633–640.
- Leflaive, J. et al., 2008. Nutrient effects on the genetic and functional diversity of aquatic bacterial communities. *FEMS microbiology ecology*, 66, pp.379–390.
- Lefroy, R.D., Chaitep, W. & Blair, G.J., 1994. Release of Sulfur from Rice Residues under Flooded and Non-Flooded Soil Conditions. *Australian Journal of Agricultural Research*, 45(3).
- Leifeld, J., 2005. Interactive comment on “ On the available evidence for the temperature dependence of soil organic carbon ” by W . Knorr et al . *Biogeosciences Discussions*, 2, pp.348–352.
- Lemke R. L., A. J. VandenBygaart, C. A. Campbell, G. P. Lafond, B. Grant, Crop residue removal and fertilizer N: Effects on soil organic carbon in a long-term crop rotation

- experiment on a Udic Boroll. *Agric. Ecosys. Environ.* **135**, 42–51 (2010).
- Lehtinen T., N. Schlatter, A. Baumgarten, L. Bechini, J. Krüger, C. Grignani, L. Zavattaro, C. Costamagna, H. Spiegel, Effect of crop residue incorporation on soil organic carbon and greenhouse gas emissions in European agricultural soils. *Soil Use Manage.* **30**, 524–538 (2014).
- Le Quéré C., R. M. Andrew, P. Friedlingstein, S. Sitch, J. Pongratz, A. C. Manning, J. I. Korsbakken, G. P. Peters, J. G. Canadell, R. B. Jackson, T. A. Boden, P. P. Tans, O. D. Andrews, V. K. Arora, D. C. E. Bakker, L. Barbero, M. Becker, R. A. Betts, L. Bopp, F. Chevallier, L. P. Chini, P. Ciais, C. E. Cosca, J. Cross, K. Currie, T. Gasser, I. Harris, J. Hauck, V. Haverd, R. A. Houghton, C. W. Hunt, G. Hurtt, T. Ilyina, A. K. Jain, E. Kato, M. Kautz, R. F. Keeling, K. Klein Goldewijk, A. Körtzinger, P. Landschützer, N. Lefèvre, A. Lenton, S. Lienert, I. Lima, D. Lombardozzi, N. Metzler, F. Millero, P. M. S. Monteiro, D. R. Munro, J. E. M. S. Nabel, S.-i. Nakaoka, Y. Nojiri, X. A. Padin, A. Pregon, B. Pfeil, D. Pierrot, B. Poulter, G. Rehder, J. Reimer, C. Rödenbeck, J. Schwinger, R. Séférian, I. Skjelvan, B. D. Stocker, H. Tian, B. Tilbrook, F. N. Tubiello, I. T. van der Laan-Luijkx, G. R. van der Werf, S. van Heuven, N. Viovy, N. Vuichard, A. P. Walker, A. J. Watson, A. J. Wiltshire, S. Zaehle, D. Zhu, Global Carbon Budget 2017. *Earth Syst. Sci. Data* **10**, 405–448 (2018).
- Li, Q. et al., 2017. Labile carbon and nitrogen additions affect soil organic matter decomposition more strongly than temperature. *Applied Soil Ecology*, **114**, pp.152–160. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.01.009>.
- Li, T. et al., 2014. Mixotrophic cultivation of a *Chlorella sorokiniana* strain for enhanced biomass and lipid production. *Biomass and bioenergy*, **66**, pp.204–213.
- Linn, D.M. & Doran, J.W., 1984. Effect of Water-Filled Pore Space on Carbon Dioxide and Nitrous Oxide Production in Tilled and Nontilled Soils 1. *Soil Science Society America Journal*, **48**, pp.1267–1272.
- Liu, C. et al., 2014. Effects of straw carbon input on carbon dynamics in agricultural soils : a meta-analysis. *Global Change Biology*, **20**(October 2017), pp.1366–1381.
- Liu E., J. Wang, Y. Zhang, D. A. Angers, C. Yan, T. Oweis, W. He, Q. Liu, B. Chen, Priming effect of ¹³C-labelled wheat straw in no-tillage soil under drying and wetting cycles in the Loess Plateau of China. *Sci. Rep.* **5**, 13826 (2015).
- Liu S., D. Huang, A. Chen, W. Wei, P. C. Brookes, Y. Li, J. Wu. Differential responses of crop yields and soil organic carbon stock to fertilization and rice straw incorporation in three cropping systems in the subtropics. *Agric. Ecosys. Environ.* **184**, 51–58 (2014).
- Liu, W. et al., 2018. Microbial carbon use efficiency and priming effect regulate soil carbon storage under nitrogen deposition by slowing soil organic matter decomposition. *Geoderma*, **332**(December 2017), pp.37–44. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.07.008>.

- Litchman, E. et al., 2015. Global biogeochemical impacts of phytoplankton: a trait-based
- Lloyd, J. & Taylor, J.A., 1994. On the Temperature Dependence of Soil Respiration. *British Ecological Society*, 8(3), pp.315–323. Available at: <https://www.jstor.org/stable/2389824> Accessed:
- Löhnis, F., 1926. Nitrogen availability of green manures.pdf. *soil science*.
- Lomander, A., Kätterer, T. & Andren, O., 1998. CARBON DIOXIDE EVOLUTION FROM TOP- AND SUBSOIL AS AFFECTED BY MOISTURE AND CONSTANT AND FLUCTUATING TEMPERATURE. *Soil Biology & Biochemistry*, 30(14), pp.2017–2022.
- Lonardo, D.P. Di et al., 2017. Priming of soil organic matter : Chemical structure of added compounds is more important than the energy content. *Soil Biology and Biochemistry*, 108, pp.41–54. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.01.017>.
- Lugato, E., Leip, A. & Jones, A., 2018. Mitigation potential of soil carbon management overestimated by neglecting N₂O emissions. *Nature Climate Change*, 8(March). Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/s41558-018-0087-z>.
- Luo, Y., Field, C.B. & Jackson, R.B., 2006. Does Nitrogen Constrain Carbon Cycling, or Does Carbon Input Stimulate Nitrogen Cycling? *ecological society of america*.
- Luo, Z., Wang, E. & Sun, O.J., 2016. Soil Biology & Biochemistry A meta-analysis of the temporal dynamics of priming soil carbon decomposition by fresh carbon inputs across ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, 101, pp.96–103. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.07.011>.
- Lützwon, M. Von & Kögel-knabner, I., 2009. Temperature sensitivity of soil organic matter decomposition — what do we know ? *Biology and Fertility of Soils*, pp.1–15.
- Macko, S. a. et al., 1987. isotopic fractionation of Nitrogen & Carbon in synthesis of amino acids by microorg.pdf. *Chemical Geology: Isotope Geoscience section*, 65, pp.79–92.
- Magnani, F. et al., 2007. The human footprint in the carbon cycle of temperate and boreal forests. *Nature letters*, 447(June).
- Malhi, Y. et al., 2008. Climate Change , Deforestation , and the Fate of the Amazon. *science*, 319, pp.169–172. Available at: <https://www.jstor.org/stable/20051967>.
- Marchello, A.E. et al., 2018. An investigation onto Cd toxicity to freshwater microalga *Chlorella sorokiniana* in mixotrophy and photoautotrophy: A Bayesian approach. *Chemosphere*, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.08.019>
- Marotta, H. et al., 2014. Greenhouse gas production in low-latitude lake sediments responds strongly to warming. *Nature Climate Change*, 6(6), pp.467–470.
- Mary, B., Mariotti, A. & Morel, J.L., 1992. USE OF ¹³C VARIATIONS AT NATURAL ABUNDANCE FOR STUDYING THE BIODEGRADATION OF ROOT MUCILAGE , ROOTS AND GLUCOSE IN SOIL. *Soil Biology & Biochemistry*, 24(10), pp.1065–1072.

- MARSCHNER, H. 1995. Adaptation of plants to adverse chemical soil conditions. Mineral nutrition of higher plants
- Mason-Jones, K., Schmöcker, N. & Kuzyakov, Y., 2018. Contrasting effects of organic and mineral nitrogen challenge the N-Mining Hypothesis for soil organic matter priming. *Soil Biology and Biochemistry*, 124(March), pp.38–46. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.05.024>.
- Mayorga, E. et al., 2005. Young organic matter as a source of carbon dioxide outgassing from Amazonian rivers. *Nature letters*, (August 2005).
- Mccallister, S.L. & Del Giorgio, P.A., 2012. Evidence for the respiration of ancient terrestrial organic C in northern temperate lakes and streams. *PNAS*, 109(42), pp.16963–16968.
- McCrea, J.M., 1950. On the Isotopic Chemistry of Carbonates and a Paleotemperature Scale Large Scale Computations in Biological Chemistry On the Isotopic Chemistry of Carbonates and a Paleotemperature Scale *. *journal of chemical physics*, 18(6), pp.849–857.
- McKinley, D. et al., 2009. Does deep soil N availability sustain long-term ecosystem responses to elevated CO₂? *Global Biogeochemical Cycles*, 15, pp.2035–2048.
- Michalak, A.M. et al., 2013. Record-setting algal bloom in Lake Erie caused by agricultural and meteorological trends consistent with expected future conditions. *PNAS*, 110(16), pp.6448–6452.
- Midwood, A.J. & Boutton, T.W., 1998. Soil carbonate decomposition by acid has little effect on $\delta^{13}\text{C}$ of organic matter. *Soil Biology & Biochemistry*, 30(10/11), pp.1301–1307.
- Miller, R.D. & Johnson, D.D., 1964. The Effect of Soil Moisture Tension on Carbon Dioxide Evolution, Nitrification, and Nitrogen Mineralization. *soil science society proceeding*, pp.1–4.
- Minasny, B. et al., 2017. Soil carbon 4 per mille. *Geoderma*, 292, pp.59–86.
- Minasny, B.D.A.A.B.M. et al., 2018. Geoderma. *Geoderma*, 309(June 2017), pp.124–129.
- Miltner A., P. Bombach, B. Schmidt-Brücken, M. Kästner, SOM genesis: microbial biomass as a significant source. *Biogeochemistry* 111, 41–55 (2012).
- Mitra, A. et al., 2014. The role of mixotrophic protists in the biological carbon pump. *Biogeosciences*, 11, pp.995–1005.
- Mitra, A. et al., 2016. Defining planktonic protist functional groups on mechanisms for energy and nutrient acquisition: incorporation of diverse mixotrophic strategies. *Protist*, 167, pp.106–120.
- Moghadam, E.H. & Dehbashi, V., 2017. The impact of financial development and trade on environmental quality in Iran. *Empirical Economics*.

- Moorhead, D.L. & Sinsabaugh, R.L., 2006. A Theoretical model of litter decay & microbial interaction. *ecological monographs*, 76(2), pp.151–174.
- Moorthi, S.D., 2017. The functional role of planktonic mixotrophs in altering seston stoichiometry. *Aquatic Microbial Ecology*, 79, pp. 235–245.
- Morelli, B. et al., 2018. Critical review of eutrophication models for life cycle assessment. Critical review of eutrophication models for life cycle assessment. *environmental science & technology*.
- Murty, D. et al., 2002. Does conversion of forest to agricultural land change soil carbon and nitrogen ? a review of the literature. *Global Change Biology*, pp.105–123.
- Nguyen, C., 2003. Rhizodeposition of organic C by plants : mechanisms and controls. *Agronomie*, 23, pp.375–396.
- Nguyen Tu, T.T. et al., 2013. Variability of ¹³C-labeling in plant leaves. *Rapid communications in mass spectrometry : RCM*, 27(17), pp.1961–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23939963> [Accessed February 9, 2015].
- Nixon, S.W., 1995. Coastal marine eutrophication: a definition, social causes, and future concerns. *oephelia*, 41, pp.199–219.
- Nobili, M. De et al., 2001. Soil microbial biomass is triggered into activity by trace amounts of substrate. *Soil Biology & Biochemistry*, 33, pp.1163–1170.
- Norby, R.J. & Zak, D.R., 2011. Ecological Lessons from Free-Air CO₂ Enrichment (FACE) Experiments. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 42, pp.181–203.
- Nugteren, P. Van et al., 2009. Seafloor ecosystem functioning : the importance of organic matter priming. , pp.2277–2287.
- O'Donnell, A.G., Wu, J. & Syers, J.K., 1994. Sulphate-S amendments in soil and their effects on the transformation of soil sulphur. *Soil Biology and Biochemistry*, 26(li), pp.1507–1514.
- O'Leary, M.H., 1988. Carbon Isotopes Photosyn Fractionation techniques may reveal new aspects of carbon dynamics in plants. *BioScience*, 38(5), pp.328–336. Available at: <http://www.jstor.org/stable/1310735> .
- O'Neal S.W. & Lembi, C.A., 1995. Temperature and irradiance effects on growth of *Pihophora oedogonia* (Chlorophyceae) and *Spirogyra*. sp. (Charophyceae). *Journal of Phycology*, 31, pp. 720–726.
- Ohm, H., Hamer, U. & Marschner, B., 2007. Priming effects in soil size fractions of a podzol Bs horizon after addition of fructose and alanine. *Journal of plant nutrition and soil science*, 170, pp.551–559.
- Olsen, Y. et al., 2002. Can phosphorus limitation inhibit dissolved organic carbon consumption in aquatic microbial food webs? A study of food web structures in

- microcosms. *Microbial Ecology*, 43, pp. 353–366.
- Oost, A.K. Van et al., 2007. The Impact of Agricultural Soil Erosion on the Global Carbon Cycle
Linked references are available on JSTOR for this article : The Impact of Agricultural Soil
Erosion on the Global Carbon Cycle. *science*, 318(5850), pp.626–629.
- Pace, M.L., Cole, J.J. & Carpenter, S.R., 2004. additions reveal terrestrial support of aquatic
food webs. *Nature letters*, 427(January), pp.240–243.
- Paterson, E. & Sim, A., 2013a. Soil-specific response functions of organic matter
mineralization to the availability of labile carbon. *Global change biology*, 19(5),
pp.1562–71. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23505211> [Accessed
November 6, 2014].
- Paterson, E. & Sim, A., 2013b. Soil-specific response functions of organic matter
mineralization to the availability of labile carbon. *Global Change Biology*, 19, pp.1562–
1571.
- Paustian, K. et al., 2016. ‘Climate-smart’ soils: a new management paradigm for global
agriculture. *nature*.
- Poeplau C., L. Reiter, A. Berti, T. Kätterer, Qualitative and quantitative response of soil
organic carbon to 40 years of crop residue incorporation under contrasting nitrogen
fertilisation regimes. *Soil Res.* **55**, 1–9 (2017).
- Powlson D. S., A. Bhogal, B. J. Chambers, K. Coleman, A. J. Macdonald, K. W. T. Goulding, A.
P. Whitmore, The potential to increase soil carbon stocks through reduced tillage or
organic material additions in England and Wales: A case study. *Agric., Ecosys. Environ.*
146, 23–33 (2012).
- Powlson D. S., A. B. Riche, K. Coleman, M. J. Glendining, A. P. Whitmore, Carbon
sequestration in European soils through straw incorporation: Limitations and
alternatives. *Waste Manage.* 28, 741–746 (2008).
- Porter, K.G. & Feig, Y.S., 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic
microflora. *Limnology and Oceanography*, 25, pp.943–948.
- Qu, L. et al., 2014. Interaction between *Chlorella vulgaris* and bacteria: Interference and
resource competition. *Acta Oceanologica Sinica*, 33(1), pp.135–140.
- Raven, J.A., 1997. Phagotrophy in phototrophs. *Limnology and Oceanography*, 42, pp.198–
205.
- Regnier, P. et al., 2013. Anthropogenic perturbation of the carbon fluxes from land to ocean.
Nature Geoscience, (June).
- Reijnders L., Ethanol production from crop residues and soil organic carbon. *Resour.*
Conserv. Recycl. 52, 653–658 (2008).
- Rey, A. et al., 2005. Effect of temperature and moisture on rates of carbon mineralization in

- a Mediterranean oak forest soil under controlled and field conditions. *European Journal of Soil Science*, 56(October), pp.589–599.
- Rhee, G.Y., 1972. Competition between an alga and an aquatic bacterium for phosphate. *Limnology and Oceanography*, 17, pp.505–514.
- Rochelle-Newall, E. et al., 2018. Impacts of elevated atmospheric CO₂ concentration on terrestrial-aquatic carbon transfer and a downstream aquatic microbial community. *Aquatic Sciences*, 80, DOI 10.1007/s00027-018-0577-0
- Roiha, T. et al., 2016. Allochthonous carbon is a major regulator to bacterial growth and community composition in subarctic freshwaters. *Scientific Reports*, 6, Article number 34456.
- Rockström, J. et al., 2009. A safe operating space for humanity. *Nature*, 461(7263), pp.472–475.
- Saffih-Hdadia K., B. Mary, Modeling consequences of straw residues export on soil organic carbon. *Soil Biol. Biochem.* **40**, 594–607 (2008).
- Salomé, C. et al., 2010. Carbon dynamics in topsoil and in subsoil may be controlled by different regulatory mechanisms. *Global change biology*, 16, pp.416–426.
- Schimel, D.S. et al., 1994. Climatic , edaphic , and biotic controls over storage and turnover in soils. *Global Biogeochemical Cycles*, 8(3), pp.279–293.
- Schlesinger, W.H. & Andrews, J.A., 2000. Soil respiration and the global carbon cycle. , (1977), pp.7–20.
- Schmidt, M.W.I. et al., 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*, 478, pp.49–56.
- Shahzad, T. et al., 2015. Contribution of exudates , arbuscular mycorrhizal fungi and litter depositions to the rhizosphere priming effect induced by grassland species. *Soil Biology & Biochemistry*, 80, pp.146–155.
- Shahzad, T. et al., 2012. Plant clipping decelerates the mineralization of recalcitrant soil organic matter under multiple grassland species. *Soil Biology and Biochemistry*, 51, pp.73–80. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0038071712001538> [Accessed October 30, 2014].
- Shahzad, T. et al., 2018. Root penetration in deep soil layers stimulates mineralization of millennia- old organic carbon. *Soil Biology and Biochemistry*, 124(June), pp.150–160. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.06.010>.
- Shimp, R.J. & Pfaender, F.K., 1985. Influence of easily degradable naturally occurring carbon substrates on biodegradation of monosubstituted phenols by aquatic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 49(2), pp.394–401.

- Skopp, J., Jawson, M.D. & Doran, J.W., 1990. Steady-State Aerobic Microbial Activity as a Function of Soil Water Content. *Soil Science Society America Journal*, 54, pp.1619–1625.
- Smith, P. et al., 2008. Greenhouse gas mitigation in agriculture. *philosophical transactions of the Royal Society*, 363(September 2007), pp.789–813.
- Smith, S. V. et al., 2001. Budgets of soil erosion and deposition for sediments and sedimentary organic carbon across the posited across the United. *Global Biogeochemical Cycles*, 15(3), pp.697–707.
- Spohn, M. et al., 2016. Soil microbial carbon use efficiency and biomass turnover in a long-term fertilization experiment in a temperate grassland. *Soil Biology and Biochemistry*, 97, pp.168–175.
- Sternberg, L. & DeNiro, M.J., 1983. Isotopic Composition of Cellulose from C3, C4, and CAM Plants Growing Near One Another. *Science*, 220, pp.947–949.
- Sterner R.W. & Elser J. J. (2002). *Ecological stoichiometry: the biology of elements from molecules to the biosphere*. Princeton University Press, Princeton, USA.
- Stewart C. E., K. Paustian, R. T. Conant, A. F. Plante, J. Six, Soil carbon saturation: concept, evidence and evaluation. *Biogeochemistry* **86**, 19–31 (2007).
- Stockmann, U. et al., 2013. Agriculture , Ecosystems and Environment The knowns , known unknowns and unknowns of sequestration of soil organic carbon. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 164, pp.80–99. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2012.10.001>.
- Stoecker, D.K. et al., 2017. Mixotrophy in the Marine Plankton. *Annual Revue of Marine Sciences*, 9, pp.311–335.
- Summons, R.E., Jahnke, L.L. & Roksandik, Z., 1994. Carbon isotopic fractionation in lipids from methsnotrophic bacteria: Relevance for interpretation of the geochemical record of biomarkers. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 58(13), pp.2853–2863.
- Sun, J. et al., 2016. Temperature and moisture responses to carbon mineralization in the biochar-amended saline soil. *Science of the Total Environment, The*, 569–570, pp.390–394. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.082>.
- Sun, R., 2018. Bioresource Technology Microorganisms-based methods for harmful algal blooms control : A review. *Bioresource Technology*, 248(May 2017), pp.12–20.
- Terrer, C. et al., 2016. This item is the archived peer-reviewed author-version of : Mycorrhizal association as a primary control of the fertilization effect Reference : *Science*, 6294, pp.72–74.
- Thi Vu, H. et al., 2010. Cocultivated bacteria can increase or decrease the culture lifetime of *Chlorella vulgaris*. *The Journal of general and applied microbiology*, 56(5), pp.413–418.

- Thiessen, S. et al., 2013. Both priming and temperature sensitivity of soil organic matter decomposition depend on microbial biomass – An incubation study. *Soil Biology and Biochemistry*, 57, pp.739–748. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0038071712004087> [Accessed November 5, 2014].
- Thorp, J.H. & DeLong, M.D., 2002. Dominance of autochthonous autotrophic carbon in food webs of rivers heterotrophic. *Oikos*, 96(3), pp.543–550.
- Tian, J. et al., 2016. Soil Biology & Biochemistry Aggregate size and glucose level affect priming sources : A three- source-partitioning study. *Soil Biology and Biochemistry*, 97, pp.199–210. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.03.013>.
- Tranvik, L.J. et al., 2009. Lakes and reservoirs as regulators of carbon cycling and climate. *limno*, 54(1), pp.2298–2314.
- Trevathan-tackett, S.M. et al., 2018. Science of the Total Environment Fresh carbon inputs to seagrass sediments induce variable microbial priming responses. *Science of the Total Environment*, 621, pp.663–669. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.193>.
- Vadstein, O., 2000. Heterotrophic, planktonic bacteria and cycling of phosphorus. Phosphorus requirements, competitive ability, and food web interactions. *Advances in Microbial Ecology*, 16, pp.115–167.
- Vestergård, M. et al., 2016. Enhanced priming of old , not new soil carbon at elevated atmospheric CO₂. *Soil Biology & Biochemistry*, 100, pp.140–148.
- Vitousek, P.M. et al., 2002. Nitrogen and nature. *Ambio*, 31, pp.97–101.
- Wackernagel, M. et al., 2002. Tracking the ecological overshoot of the human economy. *PNAS*, 99(14), pp.9266–9271.
- Walker, T.S. et al., 2003. Update on Root Exudation and Rhizosphere Biology Root Exudation and Rhizosphere Biology. *plant physiology*, 132(May), pp.44–51.
- Walse, C., Berg, B. & Sverdrup, H., 1998. Review and synthesis of experimental data on organic matter decomposition with respect to the effect of temperature , moisture , and acidity. *environmental reviews*, 40.
- Wan, M. et al., 2011. The effect of mixotrophy on microalgal growth, lipid content, and expression levels of three pathway genes in *Chlorella sorokiniana*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 91, pp.835–844.
- Wang, H. et al., 2015. Quality of fresh organic matter affects priming of soil organic matter and substrate utilization patterns of microbes. *Nature*.
- Wang, Q., He, T. & Liu, J., 2016. Litter input decreased the response of soil organic matter decomposition to warming in two subtropical forest soils. *Nature Publishing Group*, (September), pp.1–8. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/srep33814>.

- Ward, B.A. & Follows M.J. 2016. Marine mixotrophy increases trophic transfer efficiency, mean organism size, and vertical carbon flux. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113, pp. 2958–2963.
- Wardle, D.A. et al., 2004. Ecological Linkages Between Aboveground and Belowground Biota. *science*, 304(June), pp.1629–1634.
- Weier, K.L. et al., 1993. Denitrification and the Dinitrogen / Nitrous Oxide Ratio as Affected by Soil Water , Available Carbon , and Nitrate the field solely from N₂ O flux measurements . *Soil Science Society America Journal*, 57(3), pp.66–72.
- Weisse, A. et al., 2016. Functional ecology of aquatic phagotrophic protists – Concepts, limitations, and perspectives. *European Journal of Protistology*, 55, pp. 50–74.
- White, R.E. et al., 2018. Geoderma. *Geoderma*, 309(June 2017), pp.115–117.
- Whittaker, C. et al., 2014. The renewable energy directive and cereal residues. *Applied Energy*, 122, pp.207–215. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2014.01.091>.
- Wu, J., Brookes, P.C. & Jenkinson, D.S., 1993. AND DESTRUCTION THE DECOMPOSITION OF GLUCOSE. *Soil Biology & Biochemistry*, 25, pp.1435–1441.
- Yang, D. et al., 2003. Global potential soil erosion with reference to land use and climate changes. *HYDROLOGICAL PROCESSES*, 17, pp.2913–2928.
- Yanni, S.F. et al., 2017. Temperature response of plant residue and soil organic matter decomposition in soil from different depths. *European Journal of Soil Science*, pp.1–11.
- Yvon-durocher, G. et al., 2015. Temperature and the biogeography of algal stoichiometry. *Global Ecology and Biogeography*, pp.1–9.
- Zetsche, E.-M. & Ploug, H., 2015. Marine chemistry special issue: Particles in aquatic environments: From invisible exopolymers to sinking aggregates. *Marine Chemistry*, 175, pp.1–4. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304420315001024>.
- Zhang, J. et al., 2005. Impact of Land Use Changes on Surface Warming in China. *ADVANCES IN ATMOSPHERIC SCIENCES*, 22(3), pp.343–348.
- Zhu, B. & Cheng, W., 2011. Rhizosphere priming effect increases the temperature sensitivity of soil organic matter decomposition. *Global Change Biology*, 17(6), pp.2172–2183. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2486.2010.02354.x> [Accessed November 15, 2014].
- Zimmerman, A.R., Gao, B. & Ahn, M., 2011. Soil Biology & Biochemistry Positive and negative carbon mineralization priming effects among a variety of biochar-amended soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(6), pp.1169–1179. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.02.005>.

perspective, *Journal of Ecology*, 103, pp.1384–1396.

Zou, K. et al., 2016. Interactions between the green and brown food web determine ecosystem functioning. *Functional Ecology*, 30, pp.1454–1465.

Box. 1. L'accumulation de la matière organique du sol (SOM) et sa (relative) stabilité résultent de plusieurs processus de natures différentes (Stevenson 1994; Christensen 1996), pouvant être combinés :

- **Stabilisation biochimique** : la matière organique en provenance de la production primaire est composée d'assemblages de molécules plus ou moins complexes. Au fur et à mesure que l'activité des décomposeurs s'y opère, les molécules les plus complexes (e.g. lignines, tanins...) s'accumulent, par le simple fait de la dégradation préférentielle des molécules les plus simples (Zech et al. 1997 ; Derenne & Largeau 2001). En effet, rappelons que les décomposeurs sont eux-aussi soumis au compromis coût/bénéfice thermodynamique, entre l'énergie dépensée pour leurs synthèses enzymatiques et l'énergie récupérée pour assurer leurs fonctions biologiques. Cependant, comme rappelé par Schmidt et ses collaborateurs, cette stabilité biochimique ne peut expliquer à elle seule qu'une part assez réduite de la persistance à long terme des composés organiques, de l'ordre de quelques décennies en moyenne (Schmidt et al. 2011). A celle-ci s'ajoute principalement les deux processus suivants.
- **Stabilisation physique** : il s'agit plus simplement d'une protection physique de la OM au sein d'agrégats pouvant être de tailles micrométriques à nanométriques (Chenu & Plante 2006), ce qui la rends alors inaccessible aux microorganismes, et ce, indépendamment de ses caractéristiques biochimique (Kleber et al. 2011; Lehmann & Kleber 2015).
- **Stabilisation physico-chimique**: des composés de la SOM se trouvent liées par adsorption à des fractions minérales (complexe « organo-minéral ») du sols telles que les particules d'argile ou d'oxy-hydroxydes métalliques (Sorensen 1972; Merckx et al., 1985; Chenu & Plante 2006), ou de biochar (Zimmerman et al. 2011). Ainsi, ces liaisons rendent ces composés relativement peu dégradables alors qu'il peut s'agir de composés simples considérés comme labiles (Kleber et al. 2011; Lehmann & Kleber 2015), mais également de tout le reste du gradient biochimique de labilité-récalcitrance. Ainsi, la composition des sols, notamment leur teneur en argile, joue sur leur capacité à retenir et stocker – du moins momentanément – la matière organique (Chenu & Plante 2006).

Dès lors, il ne convient plus de réduire la stabilité de la SOM qui peut aller jusqu'à plusieurs milliers d'années (Poirier et al. 2002; Fontaine et al. 2007; Shahzad et al. 2018) à sa simple récalcitrance chimique tel que l'on pouvait le lire auparavant. Nous voyons ici que cette stabilité (ou « persistance ») recouvre un ensemble de processus de stabilisation, auxquels peuvent s'ajouter d'autres facteurs tels que l'anoxie. Tous ces processus de stabilisation, loin de s'exclure mutuellement, opèrent généralement de manière combinée, assurant ainsi un certain degré de persistance au court du temps à la matière organique du sol.

Bibliographie associée à la **Box. 1**

- Chenu, C. & Plante, A.F., 2006. Clay-sized organo-mineral complexes in a cultivation chronosequence : revisiting the concept of the ' primary organo-mineral complex .' *European Journal of Soil Science*, 57, pp.596–607.
- Christensen, B.T., 1996. Carbon in primary and secondary organomineral complexes. Structure and Organic Matter storage in Agricultural Soils. Eds. M.R. Carter and B.A.Stewart, page 97-165. CRC Press, Inc. Boca Raton, FL.
- 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(11), pp.833–847.
- Fontaine, S. et al., 2007. Stability of organic carbon in deep soil layers controlled by fresh carbon supply. *Nature letters*, (December).
- Kleber, M. et al., 2011. Old and stable soil organic matter is not necessarily chemically recalcitrant : implications for modeling concepts and temperature sensitivity. *Global Change Biology*17, 17, pp.1097–1107.
- Lehmann, J. & Kleber, M., 2015. The contentious nature of soil organic matter. *Nature*, 528, pp.60–68.
- Merckx, R., den Hartog, A., van Veen, J.A., 1985. Turnover of root-derived material and related microbial biomass formation in soils of different texture. *Soil Biology and Biochemistry* 17, 565-569.
- Poirier, N. et al., 2002. Abundance and composition of the refractory organic fraction of an ancient , tropical soil (Pointe Noire , Congo). *Organic Geochemistry*, 33, pp.383–391.
- Schmidt, M.W.I. et al., 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*, 478, pp.49–56.
- Shahzad, T. et al., 2018. Root penetration in deep soil layers stimulates mineralization of millennia- old organic carbon. *Soil Biology and Biochemistry*, 124(June), pp.150–160. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.06.010>.
- Sorensen, L.H., 1972. Stabilization of newly formed amino acid metabolites in soil by clay minerals. *Soil Science*, vol. 114 - issue 1 - pages 5-11
- Stevenson, F.J., 1994. Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions. John Wiley & Sons, New York. Page 90.
- Zech, W. et al., 1997. Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. *Geoderma*, 79, pp.117–161.

Zimmerman, A.R., Gao, B. & Ahn, M., 2011. Soil Biology & Biochemistry Positive and negative carbon mineralization priming effects among a variety of biochar-amended soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(6), pp.1169–1179. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.02.005>.