



**HAL**  
open science

**Le microbiome du sol : contrôle de *Fusarium*  
graminearum et transmission à l'environnement  
racinaire du blé sous l'effet de déterminants  
environnementaux et agronomiques**

Lena Simon

► **To cite this version:**

Lena Simon. Le microbiome du sol : contrôle de *Fusarium* graminearum et transmission à l'environnement racinaire du blé sous l'effet de déterminants environnementaux et agronomiques. Agronomie. Université Clermont Auvergne, 2024. Français. NNT : 2024UCFA0027 . tel-04646363

**HAL Id: tel-04646363**

**<https://theses.hal.science/tel-04646363>**

Submitted on 12 Jul 2024

**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.

Thèse présentée à l'Université Clermont-Auvergne  
Pour l'obtention du grade de Docteur d'Université  
Soutenue le 2 avril 2024

Par Lena SIMON

---

## Le microbiome du sol : contrôle de *Fusarium graminearum* et transmission à l'environnement racinaire du blé sous l'effet de déterminants environnementaux et agronomiques

---

Ecole Doctorale des Sciences de la Vie, Santé, Agronomie, Environnement  
Spécialité : Microbiologie

Sous la direction de Thierry LANGIN, Gaëlle MARLIAC et Benjamin NOWAK

### Membres du jury :

|                           |  |                    |
|---------------------------|--|--------------------|
| Pascale BESSE-HOGGAN      | Directrice de recherche, CNRS            | Présidente         |
| Edith LE CADRE            | Professeure, Institut Agro Rennes-Angers | Rapportrice        |
| Christian STEINBERG       | Directeur de recherche, INRAE            | Rapporteur         |
| Philippe VANDENKOORNHUYSE | Professeur, Université Rennes            | Examinateur        |
| Adeline PICOT             | Maître de conférences, UBO               | Examinatrice       |
| Lionel ALLETTO            | Directeur de recherche, INRAE            | Examinateur        |
| Thierry LANGIN            | Directeur de recherche, CNRS             | Directeur de Thèse |
| Gaëlle MARLIAC            | Maître de conférences, VetAgro Sup       | Co-encadrante      |
| Benjamin NOWAK            | Maître de conférences, VetAgro Sup       | Co-encadrant       |

VetAgro Sup – Campus Agronomique de Clermont -Ferrand,  
89 avenue de l'Europe, 63370 Lempdes  
UMR 1095 INRAE – UCA « Génétique, Diversité et Écophysiologie des Céréales »  
5 chemin de Beaulieu, 63000 Clermont-Ferrand



## Résumé

La réduction de l'utilisation des produits phytosanitaires constitue l'un des axes majeurs de la transition agroécologique. Dans ce contexte, il est urgent de développer des stratégies assurant une gestion efficace et durable de la pression parasitaire, tout en préservant l'environnement. La mobilisation du microbiome du sol, et notamment des communautés de bactéries qui le composent, représente une de ces solutions. S'il a été démontré qu'une partie de ces communautés était capable de limiter l'impact de pathogènes des cultures, les relations entre l'environnement de ce microbiome et sa capacité à réguler les maladies des plantes restent encore largement méconnus. L'ambition de ce projet de thèse était d'évaluer l'impact de facteurs, telles que les conditions pédologiques et les pratiques agricoles, sur la structure et le fonctionnement du microbiome du sol et d'analyser la relation entre ces modifications et la capacité du microbiome à participer à la régulation de la fusariose de l'épi. Ce projet s'articule autour de deux axes de recherche, visant à (1) déterminer quels facteurs expliquent le caractère suppressif des sols vis-à-vis de l'agent pathogène *Fusarium graminearum*, et (2) évaluer l'influence de l'environnement sur l'assemblage du microbiome du sol et du blé. Pour répondre à ces objectifs, un réseau de 103 parcelles d'agriculteurs de la plaine de Limagne (Puy-de-Dôme, France) a été mobilisé. Les parcelles représentaient une diversité de types de sols et de pratiques agricoles, et se répartissaient soit en agriculture conventionnelle, soit en agriculture biologique, soit en agriculture de conservation. Des échantillons de sol ont été prélevés dans chaque parcelle et caractérisés par (1) les pratiques agricoles (2) des analyses physico-chimiques, (3) leur communauté bactérienne par metabarcoding du gène ADNr 16S et (4) des tests d'inhibition *in vitro* (fongistase) du champignon pathogène *Fusarium graminearum*. Parmi ces 103 parcelles, 98 ont servi au prélèvement d'échantillons de rhizosphère et de racines de blé (*Triticum aestivum*) dont la communauté bactérienne a également été recensée. Enfin, neuf sols parmi les 103 ont été sélectionnés pour la culture et l'infection du blé par *F. graminearum* en conditions contrôlées. Le test de fongistase a révélé une grande variabilité au sein de l'échantillon ainsi que la capacité de certains sols à inhiber complètement la germination du champignon. Les caractéristiques pérennes du sol et la diversité bactérienne étaient liées à la fongistase des sols. Il existait aussi une corrélation entre l'abondance de *Burkholderia* spp. et la fongistase. La comparaison des microbiomes bactériens du sol, de la rhizosphère et des racines du blé a révélé des compositions différentes entre les trois compartiments. La composition microbienne dans les sols influençait celles de la rhizosphère et des racines dans une même parcelle. Les caractéristiques physico chimiques et le système de culture influençaient la composition de la communauté bactérienne dans les trois compartiments. L'expérimentation en conditions contrôlées n'a pas révélé de lien entre microbiome (diversité et composition) et symptômes de la fusariose, ni de lien entre fongistase et symptômes *in planta* sur un même sol. Dans l'ensemble, ces travaux contribuent à évaluer les possibilités d'utilisation des pratiques agricoles comme levier de contrôle agroécologique de la fusariose du blé, à travers la modulation des communautés microbiennes naturelles.

**Mots-clefs :** Metabarcoding, microbiome du sol, *Fusarium graminearum*, blé, biocontrôle, service écosystémique



## Abstract

Reducing the use of phytosanitary products constitutes one of the major axes of the agroecological transition. In this context, it is urgent to develop strategies ensuring effective and sustainable management of parasitic pressure, while preserving the environment. Mobilization of the soil microbiome, and particularly the bacterial community, represents one of these solutions. Although it has been demonstrated that part of these communities is capable of limiting the impact of crop pathogens, the relationships between the environment of the microbiome and its capacity to regulate plant diseases still remain largely unknown. The ambition of this thesis project was to evaluate the impact of factors, such as soil conditions and agricultural practices, on the structure and functioning of the soil microbiome and to analyze the relationship between these modifications and the capacity of the microbiome to participate in the regulation of *Fusarium* head blight. This project is structured around two axes of research, aiming to (1) determine which factors explain the suppressive nature of soils with respect to the pathogen *Fusarium graminearum*, and (2) evaluate the influence of the environment on the assembly of the soil and wheat microbiome. To meet these objectives, a network of 103 plots in the Limagne plain (Puy-de-Dôme, France) was mobilized. The plots represented a diversity of soil types and agricultural practices, and were divided into either intensive agriculture, organic agriculture, or soil conservation agriculture. Soil samples were taken from each plot and characterized by (1) agricultural practices (2) physicochemical analyses, (3) their bacterial community by metabarcoding of the 16S rDNA gene and (4) *in vitro* inhibition tests (fungistasis) of the pathogenic fungus *Fusarium graminearum*. Among these 103 plots, 98 were used to collect samples of wheat (*Triticum aestivum*) rhizosphere and roots, that were also described through their bacterial community. Finally, nine soils among the 103 were selected for the cultivation and infection of wheat by *F. graminearum* under controlled conditions. The fungistasis test revealed great variability within the sample as well as the ability of certain soils to completely inhibit the germination of the fungus. Perennial soil characteristics and bacterial diversity were related to soil fungistasis. There was also a correlation between the abundance of *Burkholderia* spp. and fungistasis. Comparison of bacterial microbiomes from soil, wheat rhizosphere and roots revealed different compositions between the three compartments. The microbial composition in the soil influenced those of the rhizosphere and roots of the same plot. The physicochemical characteristics and the management system influenced the composition of the bacterial community in the three compartments. Experimentation under controlled conditions did not reveal a link between microbiome (diversity and composition) and symptoms of *Fusarium* head blight, nor a link between fungistasis and *in planta* symptoms on the same soil. Overall, this work contributes to evaluating the possibilities of using agricultural practices as a lever for agroecological control of *Fusarium* head blight in wheat, through the modulation of natural microbial communities.

**Keywords:** Metabarcoding, soil microbiome, *Fusarium graminearum*, wheat, biocontrol, ecosystem service

## Remerciements

J'aimerais en premier lieu remercier mes encadrants pour la confiance qu'ils m'ont accordée, la patience dont ils ont fait preuve et le travail qu'ils ont effectué pour la réalisation de ce projet. **Gaëlle**, merci pour ton enthousiasme, ta présence et ton écoute sans faille. **Benjamin**, merci pour ta bienveillance systématique et tes paroles d'encouragements. **Thierry**, merci d'avoir rendu ce projet possible et partagé ta sagesse. Je remercie les membres du jury d'avoir accepté d'évaluer ces travaux. Merci aussi aux membres de mon comité de thèse et particulièrement à **Marie Simonin** pour son aide et son soutien. Merci aussi à **Stéphane Sauvat** et aux membres du **Végépôle** pour leur aide cruciale lors de mes expérimentations, et à toutes les personnes qui ont contribué à l'avancement de ma thèse.

Merci à toute **l'équipe MDC** (nouvellement IPM) pour leur accueil, et surtout la meilleure ambiance qu'on puisse espérer. **Géraldine**, merci pour ton travail de formation qPCR, ton grain de folie et tes goûts musicaux et vestimentaires impeccables. **Florence**, merci pour ta gentillesse et l'aide précieuse que tu m'as apportée quand je me familiarisais avec le labo. Merci à **Olivier**, mon compère montpelliérain, pour ton sens de la dérision et ton aide pour mes manip. **Ludo**, merci pour le café, les blagues et les conseils de grand chef. **Cyril**, merci pour ta patience quand le couloir se faisait bruyant. **Monsieur Dou**, merci pour tes lumières et ton calme face à mes jeux de mots DOUteux.

Un immense merci au Groupes Des Ephémères Contractuels de l'INRAE. **Florian**, merci de m'avoir accueillie dans ce groupe \*spécial\*, et d'avoir fait autant pour m'aider dans ma thèse que pour me déconcentrer. Merci **Mélissa**, pour les éclairs au chocolat (bien-sûr) mais surtout pour ton humour, ton honnêteté et ta sagacité, j'ai beaucoup appris de toi (notamment la télépathie). **Maxime**, merci d'avoir partagé avec moi des discussions, des mêmes, du seum et de la cancoillotte. **Jeanne**, merci pour ton travail d'happiness manager au GDEC et en-dehors. **Larissa**, merci d'avoir été une co-bureau exemplaire, je te pardonne de m'avoir abandonnée. **Caro**, merci pour ta précieuse approbation stylistique. Merci **Ninon** pour les soirées jeux et d'avoir accepté que je te coupe les cheveux. Merci aussi à **Christelle**, **Loriane**, **Domitille**, **Emile**, et tous les autres d'avoir contribué à rendre cette expérience incroyable.

Merci à mes amies doctorantes de VetAgro Sup : **Lucille**, mon amie du Sud, merci pour ta grande sagesse et ton intelligence, et de rire à mes blagues nulles. **Maëva**, merci de m'avoir supportée quand je râlais ou que je te taquinai sans merci. **Nolwenn**, merci pour ta bonne humeur et ton humanité. Tu as fait beaucoup pour le bien être du « bébé ». **Suzel**, merci d'avoir été mon amie de culture citadine et d'avoir permis l'impression de ce manuscrit. **Marion**, merci pour ta gentillesse, ton humour et tes références obscures. **Eulalie**, merci d'avoir partagé mon amour des animaux (et du bitchage).

Merci aussi à tous les autres que j'ai rencontré et que je ne nomme pas, et qui ont fait que la citadine que je suis a passé un si bon moment à Clermont-Ferrand (oui je sais c'est une ville mais bon...). Merci à vous tous de m'avoir accueillie, soutenue, supportée, véhiculée, et même nourrie. Merci d'avoir gardé mon chat et arrosé mes plantes. Grâce à vous c'était un plaisir de se lever le matin (ce qui est dur pour moi comme vous le savez), à cause de vous j'ai le cœur lourd de tourner cette page mais je chérirai le souvenir de ces trois années.

Merci à mes amies montpelliéraines qui m'ont soutenue pendant ces trois ans et sont venues me voir plusieurs fois malgré le manque d'exotisme de la destination. **Gaëlle, Sonia, Hida, Célia, Charlotte, Paola, Solène, Juliette**, ça aurait été beaucoup plus difficile sans vous.

Merci à mes amis du Master avec qui j'ai pu continuer à partager mon amour de la microbio (et des blagues de beauf) : **Noémie, Hélène, Hajar** et surtout **Bobby** le membre officieux de mon comité, IMHE forever.

Merci à **ma famille** de m'avoir soutenue et inspiré cette carrière scientifique, merci à ceux qui ont pu être présents lors de ma soutenance. Merci à **Carbie** mon chat, petit ange parti très tard à l'âge mûr de 19 ans, gouffre financier et grande source de réconfort.

Et par-dessus tout, merci **Louis** pour ton soutien indéfectible et inégalé.

## Table des matières

|   |    |
|---|----|
| Liste des figures et des tableaux .....   | 1  |
| Liste des abréviations .....  | 3  |
| Avant-propos .....  | 5  |
| Chapitre 1 : Introduction .....   | 7  |
| 1. Le microbiome du sol aux plantes.....  | 7  |
| 2. Fonctions bénéfiques des microorganismes pour les plantes de culture .....               | 18 |
| 3. Mobilisation des microorganismes .....   | 22 |
| 4. Le cas des sols suppressifs.....   | 25 |
| Récapitulatif n° 1 : .....  | 28 |
| 5. Le blé, holobionte d'intérêt.....  | 29 |
| 6. Le champignon phytopathogène <i>Fusarium graminearum</i> .....                           | 31 |
| 7. Objectifs et dispositif expérimental de la thèse.....                                    | 34 |
| Chapitre 2 : impact des pratiques et du type de sol sur les propriétés fongistatiques ..... | 40 |
| Récapitulatif n°2 .....   | 52 |
| Chapitre 3 : Origine microbienne des propriétés fongistatiques .....                        | 53 |
| Introduction.....   | 53 |
| Matériel et méthodes.....   | 54 |
| Résultats .....   | 58 |
| Discussion .....  | 68 |
| Conclusion .....  | 70 |
| Récapitulatif n°3 .....   | 71 |
| Chapitre 4 : assemblage du microbiome du blé.....   | 72 |
| Abstract .....  | 72 |
| Introduction.....   | 73 |
| Material and methods.....   | 75 |
| Results .....   | 79 |

|   |     |
|---|-----|
| Discussion .....  | 90  |
| Conclusion .....  | 92  |
| Récapitulatif n°4 .....   | 93  |
| Chapitre 5 : Rôle du microbiome du sol dans la mitigation des symptômes lors de l'infection ..... | 94  |
| Introduction.....   | 94  |
| Matériel et méthodes.....   | 95  |
| Résultats .....   | 97  |
| Discussion .....  | 101 |
| Récapitulatif n°5 .....   | 103 |
| Chapitre 6 : Discussion générale - Conclusion et perspectives .....                               | 104 |
| Origine de la fongistase des sols <i>envers F. graminearum</i> .....                              | 104 |
| Assemblage du microbiome souterrain du blé .....  | 105 |
| Limites de l'approche .....   | 106 |
| Perspectives de ce projet .....   | 107 |
| Conclusion .....  | 109 |
| Références.....   | 111 |
| Annexes .....   | 123 |

## Liste des figures et des tableaux

*N.B. : La numérotation des figures et des tableaux n'inclut pas ceux de l'article publié (chapitre 2).*

|  |    |
|--|----|
| Figure 1 : Représentation schématique de la notion de microbiome.....  | 8  |
| Figure 2 : Méthodes d'études des microorganismes. ....   | 10 |
| Figure 3 : Structure et composition des communautés bactériennes et fongiques associées aux plantes dans leurs différents compartiments.. ....   | 17 |
| Figure 4 : Mécanismes microbiens de phytoprotection et de phytostimulation.. ....  | 19 |
| Figure 5 : Interactions de <i>Fusarium graminearum</i> avec le microbiome du blé au cours de son cycle d'infection. ....   | 33 |
| Figure 6 : Schéma conceptuel de la thèse.....  | 35 |
| Figure 7 : Carte de la plaine de Limagne.. ....  | 36 |
| Figure 8 : Principe du séquençage PacBio .....   | 38 |
| Figure 9 : Répartition des sols en groupes « sensibles », « indéterminé » et « résistant » en fonction de leur indice de fongistase combiné (IFC).. ....                                 | 55 |
| Figure 10 : Corrélations entre l'inhibition des deux souches de <i>F. graminearum</i> lors du test de fongistase sur les 103 sols prélevés.....  | 59 |
| Figure 11 : PCoA (distance de Bray-Curtis) des échantillons de sols.....   | 60 |
| Figure 12 : Diversité observée dans les trois catégories de fongistase.....  | 62 |
| Figure 13 : Corrélations entre indice de fongistase et genres d'intérêt . ....   | 63 |
| Figure 14 : Matrice des corrélations (Pearson) entre les phyla majoritaires (>1% de l'abondance totale), les caractéristiques physico-chimiques du sol et la croissance des souches..... | 66 |
| Figure 15 : Proportions en phyla majoritaires (>1%) des sols selon 5 clusters décrivant les caractéristiques pérennes du sol (pH, CEC, Fe, Carbonates, Argile, Sable). ....              | 67 |
| Figure 16 : Shared OTUs between the three sampled compartments. ....   | 80 |
| Figure 17 : Diversity of the three sampled compartments.. ....   | 81 |
| Figure 18 : Relative abundance of the main phyla (>1%).....  | 83 |
| Figure 19 : Difference to the average relative abundance of the main families.....   | 85 |
| Figure 20 : Principal Coordinates analysis on Bray-Curtis distance between samples of (A) the rhizosphere and (B) the roots.. ....   | 88 |
| Figure 21 : Diversity of the six cultivars represented in five or more plots. ....   | 89 |
| Figure 22 : Echelle de notation de symptômes de la fusariose de l'épi utilisée lors de l'essai d'infection en chambre de culture. ....   | 95 |

|  |     |
|--|-----|
| Figure 23 : PCoA (distance de Bray-Curtis) des sols utilisés lors de l'essai d'infection en chambre de culture. ....   | 98  |
| Figure 24: Proportions des dix genres bactériens les plus abondants dans les 9 sols utilisés dans l'essai d'infection en chambre de culture. ....              | 99  |
| Figure 25 : Corrélation entre abondance des genres d'intérêt et intensité de l'infection. ....   | 100 |
| Figure 26 : corrélation entre l'évolution des symptômes (AUDPC) de la fusariose de l'épi du blé sur les neuf sols sélectionnés et l'indice de fongistase. .... | 100 |
|  |     |
| Tableau 1 : Effets prépondérants des propriétés physico-chimiques sur les paramètres des communautés bactérienne et fongique du sol. ....                      | 12  |
| Tableau 2 : Effets prépondérants des pratiques agricoles sur les communautés bactériennes et fongiques. ....   | 14  |
| Tableau 3 : Avantages et inconvénients des différentes approches de biocontrôle appliquées au biocontrôle microbien dans les grandes cultures. ....            | 23  |
| Tableau 4 : Types et mécanismes possibles de contrôle microbien des pathogènes à l'origine des sols suppressifs. ....  | 27  |
| Tableau 5 : Effectifs des agriculteurs et des parcelles prélevées par système de production et types d'échantillons. ....                                      | 37  |
| Tableau 6 : Diversité observée par groupe de fongistase des sols ....  | 61  |
| Tableau 7 : Genres et espèces indicateurs de chaque catégorie de fongistase. ....  | 64  |
| Table 8 : Number of amplicons sequenced and affiliated taxa by compartment and taxonomic rank. ....  | 80  |
| Table 9: Indicator species of management systems in each compartment. ....   | 86  |

## Liste des abréviations

|                              |   |
|------------------------------|---|
| ADN                          | Acide désoxyribonucléique                                     |
| ARN                          | Acide ribonucléique   |
| AUDPC                        | Aire sous la courbe du développement des symptômes            |
| C                            | Carbone   |
| CCS                          | Circular Consensus Sequencing                                 |
| CEC                          | Capacité d'Echange Cationique – Cationic Exchange Capacity    |
| COV ou VOCs                  | Composés Organiques Volatiles – Volatile Organic Compounds    |
| Cu                           | Cuivre  |
| Fe                           | Fer   |
| FHB                          | Fusarium Head Blight  |
| IF                           | Indice de Fongistase  |
| IFC                          | Indice de Fongistase Combiné                                  |
| IFT ou TFI                   | Indice de Fréquence de Traitement – Treatment Frequency Index |
| ISR ou SIR                   | Induced Systemic Resistance – Résistance Systémique Induite   |
| K                            | Potassium   |
| N                            | Azote   |
| N <sub>2</sub>               | Di-azote  |
| NF ISO                       | Norme Française - International Standardization Organization  |
| NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> | Ammonium  |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> | Nitrate   |
| OD                           | Observed Diversity – Diversité observée                       |
| OTUs                         | Operational Taxonomic Units                                   |
| P                            | Phosphore   |
| PCoA                         | Analyse en coordonnées principales                            |
| PDA                          | Potato Dextrose Agar  |
| qPCR                         | quantitative Polymerase Chain Reaction                        |
| SI                           | Shannon Index – Indice de Shannon                             |
| SMRT                         | Single Molecule Real Time                                     |





## Avant-propos

Les évolutions des systèmes agricoles qui sont intervenues dans un grand nombre de pays développés au cours de la seconde moitié du XX<sup>e</sup> siècle ont permis d'assurer la sécurité alimentaire d'une partie de la population humaine. Pour autant, les systèmes qui en résultent sont aujourd'hui remis en question pour leurs limites et les désagréments qu'ils entraînent : érosion des sols, contamination des eaux naturelles, baisse de la biodiversité (Tilman et al., 2002)... Dans ce contexte a émergé le concept de transition agroécologique qui propose de faire évoluer l'agriculture vers des pratiques plus vertueuses et durables. Il existe notamment une volonté croissante de s'affranchir de l'usage des intrants, et plus particulièrement des pesticides, en agriculture. Au-delà de l'intérêt de ne plus en dépendre, il s'agit de limiter l'usage de substances potentiellement nocives pour l'homme et l'environnement (Goeb et al., 2020; Jacquet et al., 2022a). Cette volonté est illustrée par des initiatives comme le plan Ecophyto initié en 2008 par le gouvernement français, qui avait pour objectif de réduire de moitié l'usage des pesticides en dix ans et le nouveau plan Ecophyto 2030 qui planifie le retrait de 75 molécules sur les 291 encore utilisées (Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire, n.d.). Dans la pratique il est difficile de diminuer la consommation des produits phytosanitaires, comme l'ont illustré le relatif échec du premier plan Ecophyto, qui n'a pas atteint ses objectifs en termes de réduction des consommations, ou la récente mise en suspens du plan actuel.

Les deux grandes familles de produits phytosanitaires les plus utilisées sont les herbicides et les fongicides (Agreste, 2022). Certains produits comme des herbicides peuvent être substitués par d'autres pratiques (par exemple, le désherbage mécanique) et sont plus faciles à remplacer. Pour d'autres produits comme les fongicides, peu de solutions existent, or les agriculteurs sont en demande d'alternatives à l'utilisation de ces produits. En outre, l'utilisation répétée de mêmes molécules entraîne l'apparition de souches résistantes dans les populations naturelles d'agents pathogènes (Lucas et al., 2015). Certaines pratiques comme le labour permettent de limiter la propagation des agents pathogènes fongiques en enfouissant les résidus de culture (Leplat et al., 2013), mais sont aussi questionnées pour leur impact sur l'environnement. En effet, la pratique du labour est accusée de fragiliser la structure des sols et de favoriser l'érosion, ainsi que d'accélérer la minéralisation du carbone organique stocké dans les sols (Haddaway et al., 2017; Tilman et al., 2002).

Dans cette optique, de nombreuses initiatives s'orientent donc vers l'agroécologie, qui repose sur les services fournis par la biodiversité : les services écosystémiques (Wezel et al., 2009). Le recours aux services écosystémiques issus des propriétés du sol et des plantes est désormais une thématique de recherche privilégiée. La notion de service écosystémique a émergé à la fin du 20<sup>ème</sup> siècle et désigne les bénéfices pour l'Homme et la société issus des processus écologiques (FAO, 2020). On peut en

distinguer quatre catégories : les services d’approvisionnement, de support, les services culturels et les services de régulation. Les services de régulation comprennent le contrôle des bioagresseurs ou la pollinisation (Haines-Young and Potschin, 2009). Le contrôle des bioagresseurs, c’est-à-dire des organismes susceptibles d’engendrer une perte de récolte, est particulièrement important en agroécologie. C’est la mobilisation ce service qui sera au cœur de ce sujet de thèse.

Les pratiques agricoles peuvent évoluer pour intégrer la stimulation de ces services. Il s’agit de changer de paradigme et de définir des systèmes de cultures combinant des leviers pour favoriser la régulation des bioagresseurs, par davantage de mesures prophylactiques, et en imposant une plus faible pression de sélection. Etant donnée leur grande diversité fonctionnelle et leur activité dans l’agroécosystème, beaucoup d’espoirs sont portés par la mobilisation des microorganismes comme voie alternative, par différentes approches (Jacquet et al., 2022b).

Pour exploiter le potentiel des microorganismes en protection des cultures, beaucoup d’informations sur l’interaction des communauté microbiennes avec l’environnement, les agents pathogènes et leur hôte sont encore nécessaires (Busby et al., 2017). Dans l’introduction de ce document, nous proposons de décrire les microbiomes du sol et des plantes, leurs fonctions d’intérêt, ainsi que les méthodes employées pour leur mobilisation. Enfin notre modèle d’étude, la fusariose du blé, les objectifs du projet et le dispositif méthodologique de la thèse seront présentés.

# Chapitre 1 : Introduction

## 1. Le microbiome du sol aux plantes

### 1.1. Définitions

Les microorganismes sont omniprésents dans l'environnement et interagissent avec tous les êtres vivants. L'assemblage de microorganismes associés à un environnement ou à un hôte, plante ou animal, forme son microbiote. Le microbiote est constitué de bactéries, archées, protistes et champignons microscopiques. Le microbiote en activité et en interaction avec un hôte ou un environnement donné est aussi appelé « microbiome » (Fig. 1). Ce terme désigne également l'ensemble des gènes et des produits de l'activité d'une communauté microbienne (Berg et al., 2020).

Le microbiote joue un rôle majeur dans la vie de l'hôte, au niveau son développement, sa nutrition, son métabolisme et sa résistance aux stress biotiques ou abiotiques (Alavi et al., 2013; Hartman and Tringe, 2019; Ikeda-Ohtsubo et al., 2018). Il représente un panel de fonctions variées et donc un potentiel d'adaptation à l'environnement. Ces nombreuses interactions avec l'hôte sont plus ou moins étroites et bénéfiques, et peuvent aller de la pathogénicité à la symbiose mutualiste. Cette interdépendance encourage la prise en compte du microbiote lors de l'étude d'un organisme donné. C'est ce qui a donné lieu au concept d'holobionte, l'association de l'hôte et de son microbiote, parfois considéré comme l'entité soumise à la pression de sélection. Par ailleurs, l'observation récurrente de certains taxons associés aux hôtes d'une même espèce ou d'une même population a imposé l'idée d'un « core microbiome » (Vandenkoornhuyse et al., 2015). Cette notion suggère que l'assemblage de ces communautés n'est pas aléatoire mais le résultat de longues co-évolutions.

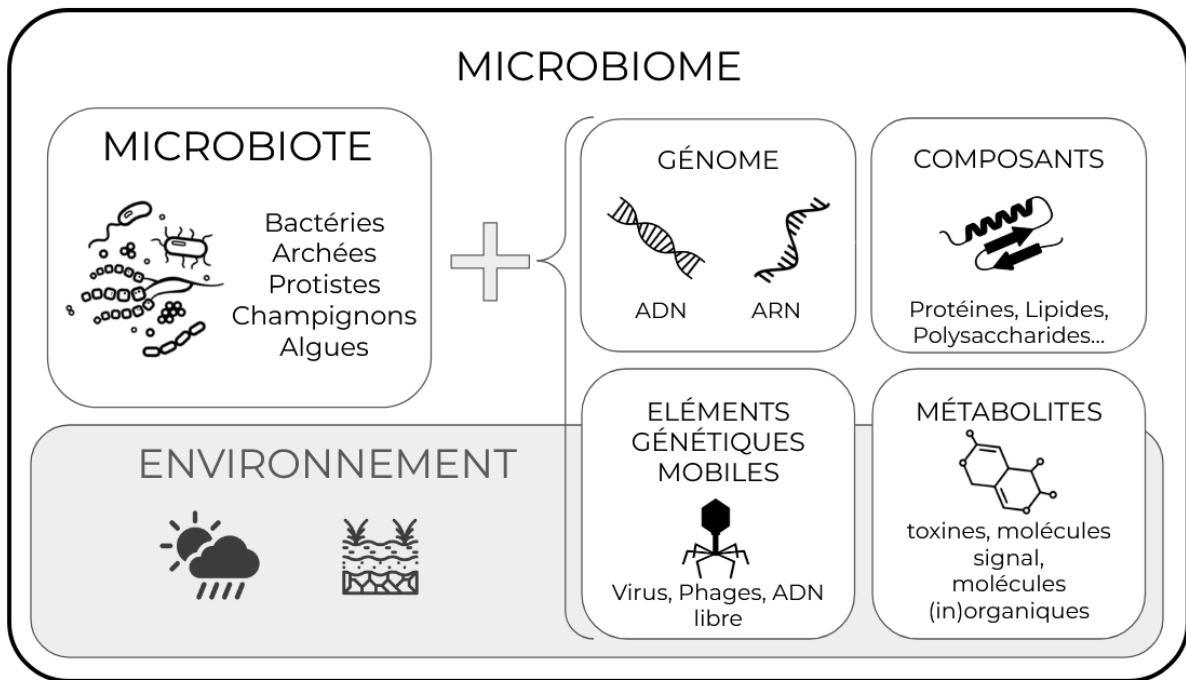


Figure 1 : Représentation schématique de la notion de microbiome. Le microbiome inclut la composition de la communauté microbienne et les produits de son activité, dans un environnement donné (d'après Berg et al., 2020).

## 1.2. L'étude des communautés microbiennes

### 1.2.1. Descripteurs de la communauté microbienne

Plusieurs indicateurs peuvent être utilisés en écologie microbienne : la biomasse (ou abondance) reflète la quantité absolue de microorganismes, la structure (ou composition) décrit l'identité et les proportions des taxons et la richesse spécifique (ou diversité observée) la quantité de taxons différents présents (Garbeva et al., 2004). La richesse spécifique est un indice d'alpha-diversité, propre à un échantillon donné. C'est également le cas de l'indice de Shannon, qui prend en compte le nombre de taxons ainsi que leur abondance relative. Les microorganismes peuvent aussi être décrits par les fonctions qu'ils exercent (Lemanceau et al., 2017), et étudiés au sein de réseaux d'interactions qui reflètent leur co-occurrence (Jiang et al., 2019). Il existe un éventail de méthodes pour caractériser l'abondance, l'activité, la composition et déterminer les fonctions de la communauté microbienne.

### 1.2.2. Diversité des techniques disponibles

Jusqu'à récemment, l'étude des communautés microbiennes était limitée par la faible fraction cultivable des microorganismes, estimée à 1 %. Les dernières années ont vu le développement de méthodes et d'équipements permettant d'une part de faciliter la culture et donc l'étude d'une fraction plus importante de ces communautés, et d'autre part de s'affranchir de la culture pour dénombrer et décrire les communautés (Lemanceau et al., 2015; Zhang and Xu, 2008).

L'avènement de l'analyse des données « omiques », c'est-à-dire la caractérisation groupée de tous les organismes d'un milieu selon leurs gènes ou le produit de leurs transcription et traduction, permet de dresser un profil complet des communautés environnementales. Ces méthodes reposent en partie sur le séquençage à haut débit, grâce aux techniques de séquençage de nouvelle génération (Bertola et al., 2021; Kumar et al., 2023) (Fig. 2).

Parmi ces techniques, le metabarcoding permet d'identifier les taxons présents dans l'environnement, par l'amplification d'un gène « barcode » suffisamment conservé au sein d'un règne, par exemple la région V3-V4 de l'ADN ribosomique 16S dans le cas des procaryotes. La taxonomie est ensuite assignée en fonction des bases de données disponibles. Cette méthode est actuellement un standard en écologie microbienne pour la description de la composition des communautés.

La métagénomique correspond au séquençage des génomes complets de tous les organismes présents dans un environnement donné, ce qui facilite l'identification des espèces présentes dans ces communautés, et permet surtout une prédiction plus précise des fonctions potentielles de ces communautés. Il est parfois souligné que ces deux méthodes, metabarcoding et métagénomique, prennent en compte l'ensemble des microorganismes présents, actifs ou non.

La métatranscriptomique, c'est-à-dire le séquençage de la totalité des ARN présents, permet quant à elle la mesure de l'activité et des fonctions d'une communauté microbienne. Enfin la métagénomique et la métabolomique proposent l'identification des protéines et métabolites produits par une communauté microbienne, ce qui renseigne sur leur activité, et peut permettre d'expliquer les processus associés aux services écosystémiques microbiens (Berg et al., 2020; Kumar et al., 2023).

Les approches par la culture conservent néanmoins leur intérêt et sont complémentaires des données obtenues par d'autres approches. La « culturomique » propose notamment de multiplier les milieux de culture afin d'isoler le plus grand nombre possible de microbes (Zhang et al., 2021). Ces techniques pourraient notamment permettre l'enrichissement de microorganismes rares (Kavamura et al., 2019; La Scola, 2015) et permettent une étude plus approfondie du métabolisme, du type trophique, de nouvelles espèces non identifiées.

Il est aussi possible de quantifier l'abondance absolue de la communauté microbienne par exemple par l'amplification des ADN (qPCR) ou la destruction des cellules microbienne pour ensuite mesurer le carbone extractible libéré (fumigation). D'autres méthodes incluent la cytométrie en flux, et la quantification des acides gras phospholipidiques ou de l'adénosine tri-phosphate (Zhang et al., 2017). Enfin l'activité globale de la communauté microbienne des sols peut notamment être estimée via la mesure de la respiration.

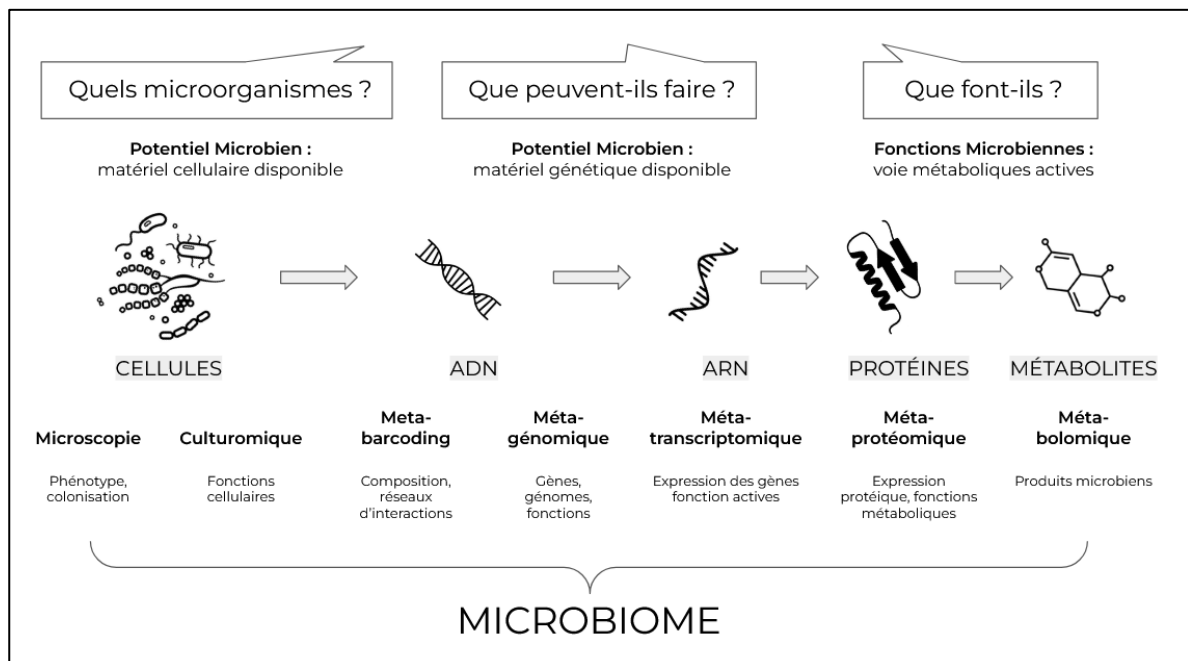


Figure 2 : Méthodes d'études des microorganismes. D'après Berg et al., 2020

Les techniques disponibles permettent désormais de décrire en détail la composition, l'abondance, l'activité et les fonctions des communautés microbiennes. La compréhension de la dynamique des communautés microbiennes en fonction des hôtes et des environnements est essentielle pour favoriser les services rendus par les microorganismes, notamment dans l'agroécosystème (Bertola et al., 2021). Dans la suite du document il sera question de microbiomes d'intérêt pour la protection des cultures : le microbiome du sol et de l'environnement racinaire des plantes.

### 1.3. Le microbiome des sols

Loin d'être un milieu inerte, le sol abrite une vaste biodiversité. Les microorganismes constituent une grande part de celle-ci, puisqu'on estime qu'un gramme de sol contient environ un million d'espèces microbiennes (Karimi et al., 2018a). Chaque espèce a un fonctionnement et un type trophique particuliers, ainsi que des conditions de développement optimales spécifiques. Il est alors attendu que les caractéristiques du sol exercent une pression de sélection sur ces microorganismes, et soient déterminantes pour la composition et l'abondance microbienne dans le milieu édaphique.

Les principaux phyla bactériens dans les sols varient selon les zones géographiques, mais parmi ceux fréquemment observés se trouvent les Proteobactéries (ou Pseudomonadota), les Bacteroidetes, les Firmicutes (ou Bacillota), et les Actinobactéries. Les champignons appartiennent quant à eux principalement aux Ascomycètes et aux Basidiomycètes (Ikeda-Ohtsubo et al., 2018; Trivedi et al., 2020). La composition du microbiome du sol, tout comme son abondance et sa diversité, sont influencés par une multitude de facteurs environnementaux décrits ci-après.

#### 1.3.1. Influence des caractéristiques pédologiques

Parmi les caractéristiques du sol, certaines résultent du processus de pédogénèse et sont peu soumises à des variations au cours du temps, à l'échelle des activités humaines. Ces caractéristiques pérennes regroupent notamment sa texture (taille des particules de sol, réparties selon la fraction d'argile, de limon et de sable), sa capacité d'échange cationique (CEC), sa teneur en certains métaux et en carbonates, et son pH. En outre, toutes ces caractéristiques sont intrinsèquement liées. Par exemple, un sol avec une teneur en argile élevée aura généralement une CEC plus importante qu'un sol sableux (Dequiedt et al., 2011). D'autres caractéristiques comme la teneur en matière organique sont plus variables, et dépendantes notamment des pratiques agricoles, bien qu'également liées aux caractéristiques pérennes. Par exemple, les sols argileux retiennent davantage la matière organique que les sols sableux grâce à la formation d'associations entre l'argile et le carbone organique, qui limite la dégradation de celui-ci par la respiration des micro-organismes hétérotrophes (Islam et al., 2022).

Ces caractéristiques sont déterminantes dans la composition et l'abondance des communautés microbiennes. Les effets sont variables selon la nature de la communauté étudiée (par exemple, bactérienne ou fongique), et la zone géographique, mais certaines tendances ont pu être dégagées. Les caractéristiques expliquant le plus de variations de la communauté microbienne sont le pH (Wang et al., 2019; Zhang et al., 2016) et la texture du sol (Dequiedt et al., 2011) en ce qui concerne les caractéristiques pérennes, et la teneur en matière organique (Constancias et al., 2015; Dequiedt et al., 2011; Naveed et al., 2016) en ce qui concerne les caractéristiques variables (Tab. 1).



Sur le territoire français par exemple, La texture, le pH et le carbone organique total expliqueraient davantage les variations de biomasse que le climat (Dequiedt et al., 2011). Il existe une corrélation positive entre la biomasse microbienne et le pH, la finesse du sol (texture argileuse), et sa capacité d'échange cationique (CEC). Une texture argileuse favoriserait la création de niches et l'occupation par les microorganismes, notamment grâce à la création d'agrégats stables (Constancias et al., 2015; Ranjard and Richaume, 2001). A l'inverse, un pH acide, le ratio Carbone/Azote (C/N), et une texture grossière (sableuse) sont négativement corrélés à la quantité de biomasse microbienne. Le pH serait aussi positivement corrélé à la diversité taxons bactériens, contrairement à la teneur en argile et au ratio C/N (Terrat et al., 2017). Enfin, les facteurs influençant la distribution taxonomique des archées et bactéries seraient en premier lieu le pH du sol, puis le type d'exploitation du sol, la texture, la teneur en nutriments et enfin le climat (Karimi et al., 2018b).

Tableau 1 : Effets prépondérants des propriétés physico-chimiques sur les paramètres des communautés bactérienne et fongique du sol. Légende : + = augmentation, - = diminution, \* = impact sur la composition, B. = communauté bactérienne, F. = communauté fongique. 1. Lauber et al., 2008, 2. Kuramae et al., 2012, 3. Constancias et al., 2015, 4. Karimi et al., 2018, 5. Terrat et al., 2017, 6. Xue et al., 2018, 7. Naveed et al., 2016, 8. Wang et al., 2019, 9. Zhang et al., 2016, 10. Dequiedt et al., 2011.

|           | pH     |    | Argile |    | CEC   |    | Carbonates |    | Matière organique |    | C/N |    |
|-----------|--------|----|--------|----|-------|----|------------|----|-------------------|----|-----|----|
|           | B.     | F. | B.     | F. | B.    | F. | B.         | F. | B.                | F. | B.  | F. |
| Structure | *1,4   | *9 |        |    |       |    |            |    |                   |    | *2  |    |
| Diversité | +3,5,8 |    | -3,5   |    | +7    | +7 | +3         |    |                   |    | -5  |    |
| Biomasse  | +10    |    | +3,10  |    | +6,10 |    |            |    | +3,10             |    | -10 |    |

### 1.3.2. Influence des pratiques agricoles

Les pratiques culturales dépendent des systèmes de production dans lesquels s'inscrivent les exploitations, qui sont définis par « l'ensemble des modalités techniques mises en œuvre sur des parcelles cultivées de manière identique » (Sebillotte, 1990). Chaque système répond à des objectifs de gestion et de production et peut s'inscrire dans un cadre délimité par des principes ou des normes qui réglementent les pratiques culturales. Plusieurs pratiques sont donc souvent regroupées et existent en association au sein d'un système de production donné. Dès lors, elles interagissent et la modification de l'environnement est le fait de la somme de ces pratiques. De manière schématique, l'agriculture conventionnelle vise à optimiser la production grâce au recours aux intrants, alors que l'agriculture biologique et l'agriculture de conservation s'inscrivent dans une démarche agroécologique, en s'appuyant sur la mobilisation des services écosystémiques. L'agriculture biologique proscrit l'utilisation de produits phytopharmaceutiques et d'engrais de synthèse et privilégie des techniques comme des rotations plus longues et la complémentarité entre les productions animales et végétales, avec notamment le recours aux amendements organiques, pour assurer la protection et la nutrition des cultures. L'agriculture de conservation cherche à favoriser le développement de la faune du sol, pour maximiser les services écosystémiques rendus par ces organismes. Elle repose pour cela sur trois piliers : un travail du sol minimal, une couverture permanente du sol par des couverts ou par des résidus végétaux et la diversification des espèces dans la rotation (Christel et al., 2021).

Les pratiques agricoles façonnent le milieu et peuvent impacter les communautés microbiennes du sol, en modifiant les caractéristiques physico-chimiques de l'environnement tellurique. Ces modifications peuvent être directes, par des pratiques qui visent à impacter la teneur des sols en certains éléments (fertilisation). Les modifications peuvent aussi être indirectes, par exemple par le choix du couvert végétal, qui modifie l'environnement tellurique par son activité racinaire ou lors de sa décomposition (dans le cas des résidus de culture). En rapport avec la modification des caractéristiques variables du sol ; il apparaît que les pratiques qui impactent la teneur en nutriments, la disponibilité et la diversité des substrats carbonés, impactent le plus les microorganismes (Delitte et al., 2021).

Notamment, les systèmes qui ont le plus recourt à l'ajout de matière organique par des amendements augmenteraient la biomasse, la diversité et l'activité des bactéries du sol (Lori et al., 2017) (Tab. 2). La fertilisation minérale en azote augmenterait cependant aussi de 15% la biomasse microbienne (Geisseler and Scow, 2014). La composition en microorganismes peut être influencée par la richesse en nutriment du milieu, qui détermine la présence d'oligotrophes ou de copiotrophes (Hartmann et al., 2015).

Une plus faible biomasse microbienne serait retrouvée dans les sols des monocultures en comparaison aux autres systèmes (Dequiedt et al. 2011) et les rotations culturales plus longues apporteraient aussi une augmentation d'environ 15% de richesse microbienne (Venter et al., 2016). Le labour et plus généralement une augmentation du travail du sol aurait un effet négatif sur la diversité bactérienne et fongique (Lisboa et al., 2015; Schmidt et al., 2019, 2018; Sipilä et al., 2012).

Tableau 2 : Effets prépondérants des pratiques agricoles sur les communautés bactériennes et fongiques. Références : 1. Schmidt et al., 2018, 2. Schmidt et al., 2019, 3. Kim et al., 2020, 4. Hartmann et al., 2015, 5. Geisseler et al., 2014, 6. Lori et al., 2017, 7. Kavamura et al., 2018, 8. Hartman et al., 2018, 9. Venter et al., 2016, 10. Lupatini et al., 2017, 11. Esmailzadeh-Salestani et al., 2021. Les méta-analyses sont indiquées en gras. Légende : + = augmentation, - = diminution, \* = impact sur la composition, B. = communauté bactérienne, F. = communauté fongique. AB vs AC = Agriculture biologique comparée à l'agriculture conventionnelle.

|           | Labour      |             | Rotation  |           | Cultures intermédiaires |           | Fertilisation minérale (N) |    | AB vs AC        |              |
|-----------|-------------|-------------|-----------|-----------|-------------------------|-----------|----------------------------|----|-----------------|--------------|
|           | B.          | F.          | B.        | F.        | B.                      | F.        | B.                         | F. | B.              | F.           |
| Structure | <b>*1,8</b> | <b>*2,8</b> |           |           | <b>*1</b>               |           | <b>*7</b>                  |    | <b>*4,8</b>     | <b>*4,8</b>  |
| Diversité | <b>-1</b>   |             | <b>+9</b> | <b>+9</b> |                         | <b>+2</b> |                            |    | <b>+4,10,11</b> | <b>+4,11</b> |
| Biomasse  |             |             |           |           | <b>+3</b>               |           | <b>+5</b>                  |    | <b>+6</b>       |              |

Il apparaît que les communautés microbiennes telluriques sont fortement influencées par les caractéristiques pérennes des sols. Néanmoins, pour un type de sol donné, il semble exister une marge de variation d'activité, de composition, de diversité et d'abondance du fait des pratiques culturales. Or, dans les sols agricoles, la nature du microbiome du sol de réserve est déterminante pour sa capacité à fournir des services écosystémiques, notamment à travers ses interactions avec les plantes.

#### 1.4. Le microbiome des plantes

Le microbiote de la plante provient de son environnement (transmission horizontale) et dans une moindre mesure du microbiote initial de la graine, transmis en partie par la plante mère (transmission verticale) (Philippot et al., 2013; Shade et al., 2017). Dans l'environnement, les microorganismes proviennent de l'atmosphère, de l'eau et du sol. Dans les cas des plantes de culture, ce microbiome dépend aussi de ce qui est apporté via les pratiques agricoles : fertilisation organique ou encore microorganismes apportés activement dans un objectif de biocontrôle (Berg et al., 2021; Scotti et al., 2020).

Les communautés microbiennes varient selon chaque compartiment et organes végétaux (Trivedi et al., 2020), ainsi qu'en fonction des espèces végétales et des zones géographiques (Vandenkoornhuysen et al., 2015). Dans le cas des plantes, on peut distinguer plusieurs compartiments d'intérêt dans lesquels les microbiomes peuvent différer : les parties aériennes ou phyllosphère (tiges, feuilles, organes reproducteurs), et souterraines. Parmi les parties souterraines, on distingue le sol au contact et sous l'influence des racines (la rhizosphère), la surface des racines (rhizoplan) et l'intérieur des racines (endosphère) (Philippot et al., 2013; Santoyo, 2022). Le microbiome des parties souterraines est le plus riche et diversifié, étant protégé des UVs et des variations de température (Bulgarelli et al., 2013).

Dans le sol, les plantes interagissent avec ces microorganismes grâce au phénomène de rhizodéposition : les plantes sécrètent dans la rhizosphère des composés riches en azote et en carbone qui, en attirant et en sélectionnant les microorganismes, contribuent à la composition des microbiomes racinaires. La rhizodéposition et le profil d'exsudation racinaire varient entre les espèces et les variétés, ainsi qu'au cours du développement de la plante (Bulgarelli et al., 2013; Park et al., 2023). Il est estimé que la plante peut allouer entre 10% et 40% du carbone fixé lors de la photosynthèse à la rhizodéposition, selon son stade de développement et son environnement (Bais et al., 2006; Kuzyakov and Domanski, 2000). Le recrutement peut être expliqué comme un processus en deux étapes : une étape de sélection des microorganismes spécialistes de l'utilisation des ressources de la rhizosphère, et une étape d'interaction plus fine dépendant du génotype de la plante où peut s'installer un dialogue moléculaire entre la plante et les microorganismes (Bulgarelli et al., 2013). Ainsi, ces deux étapes ont un rôle de filtre sur la communauté microbienne. Il est d'ailleurs souvent observé une diminution de la diversité à proximité de la plante (Trivedi et al., 2020). Ce phénomène est imputable à la sélection de microorganismes copiotrophes spécialisés dans l'exploitation des composés carbonés fournis par la plante. En outre, il a été démontré que les plantes sont capables d'interagir préférentiellement avec des microorganismes qui en retour peuvent exercer des fonctions

bénéfiques. Les plantes peuvent aussi moduler leur profil d'exsudation racinaire en fonction des stress biotiques ou abiotiques (Cantó et al., 2020; Hartman and Tringe, 2019; Park et al., 2023).

Le sol de réserve constitue donc un « réservoir microbien » à partir duquel la plante recrute son microbiome souterrain (Berg and Smalla, 2009). La composition taxonomique des microbiomes racinaire et rhizosphérique est ainsi étroitement liée à celle du sol. Elle résulte aussi de la sélection appliquée par les changements de niche entre sol et racines et l'interaction avec la plante. Les principaux phyla bactériens et fongiques dans l'environnement racinaire de la plante sont donc sensiblement similaires à ceux du sol, mais peuvent différer en proportions (Ikeda-Ohtsubo et al., 2018; Trivedi et al., 2020) (Fig. 3).

L'assemblage du microbiome souterrain des plantes dépend donc principalement (1) du réservoir microbien dans le sol (2) du génotype et du stade de la plante et (3) de facteurs environnementaux et des stress qui peuvent survenir. La prise en compte des interactions entre la plante et ses microbiotes, en tant qu'holobionte, représente un changement de paradigme dans l'étude des organismes vivants et en particulier des plantes d'intérêt agronomique (Berg et al., 2020). Par plusieurs mécanismes décrits ci-après, les communautés microbiennes du sol, de la rhizosphère et des racines jouent un rôle majeur pour la santé des plantes.

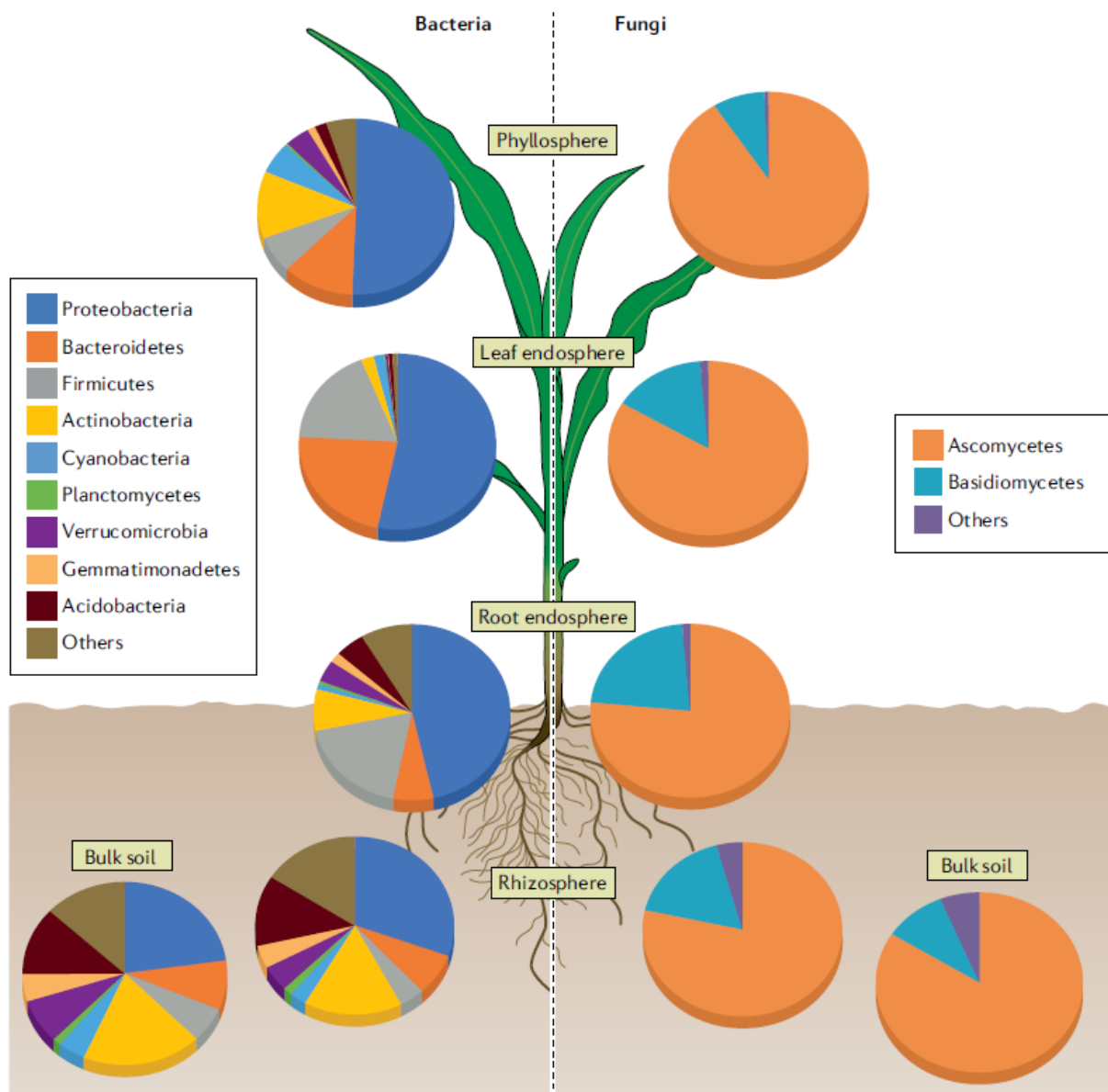


Figure 3 : Structure et composition des communautés bactériennes et fongiques associées aux plantes dans leurs différents compartiments. Les diagrammes circulaires montrent les moyennes des abondances relatives des principaux phyla bactériens (à gauche) et fongiques (à droite) détectés dans le sol, la rhizosphère, l'endosphère racinaire, l'endosphère foliaire et la phyllosphère de diverses espèces végétales (Source : Trivedi et al., 2020).

## 2. Fonctions bénéfiques des microorganismes pour les plantes de culture

Il est désormais admis que les microorganismes présents dans le sol et recrutés par la plante peuvent contribuer positivement au développement des végétaux, et ce par de nombreux mécanismes (Berendsen et al., 2012). Parmi ceux-ci, on peut distinguer deux modes d'action principaux : la phytostimulation et la phytoprotection. Ces fonctions sont exécutées par divers microorganismes, en association plus ou moins étroite avec les plantes, dans les racines, la rhizosphère ou en amont, dans le sol de réserve.

### 2.1. Phytostimulation

#### 2.1.1. Solubilisation des minéraux

Les plantes prélèvent les minéraux dans la phase aqueuse du sol, la disponibilité des minéraux dépend donc de leur solubilisation. Des minéraux avec une forte affinité avec la phase solide du sol, comme le phosphore et le fer, sont peu biodisponibles pour la plante. Certains microorganismes des genres *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Klebsiella* peuvent solubiliser le phosphore (Gyaneshwar et al., 2002; Lugtenberg and Kamilova, 2009). De nombreuses bactéries comme certains *Pseudomonas* produisent aussi des sidérophores capables de chélater le fer, ce qui facilite son absorption par la plante (Ahemad and Kibret, 2014).

La mycorhization, c'est-à-dire l'interaction symbiotique entre des champignons mycorhiziens et les racines de plantes, concernerait jusqu'à 80% des espèces végétales terrestres (Bais et al., 2006). Elle s'établit notamment dans un contexte de sols pauvres en nutriments. Cette interaction symbiotique permet de multiplier la surface racinaire des plantes et ainsi de maximiser leur capacité d'absorption d'eau, de sels minéraux et tout particulièrement du phosphore (Smith and Read, 2008) (Fig. 4C).

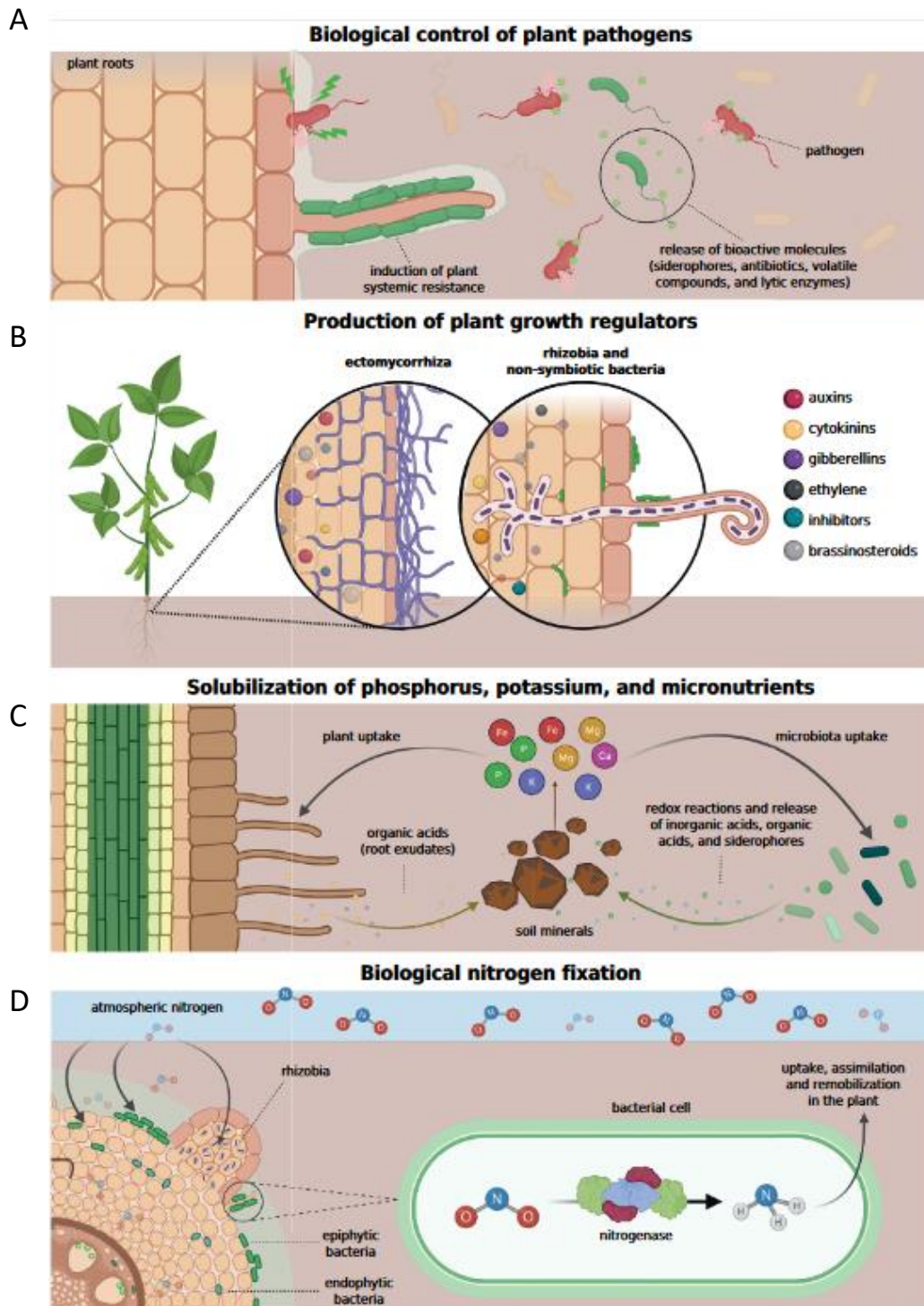


Figure 4 : Mécanismes microbiens de phytoprotection et de phytostimulation. Les micro-organismes bénéfiques peuvent (A) libérer des antibiotiques, des composés volatiles et des enzymes lytiques, causant des dommages aux agents pathogènes, en plus de susciter une résistance systémique induite des plantes et de rivaliser pour l'espace et les nutriments. Le microbiote peut (B) stimuler la germination, le développement de l'architecture racinaire et la biomasse végétale, (C) augmenter la disponibilité des nutriments pour les plantes en favorisant la solubilisation des minéraux et (D) permet la fixation biologique de l'azote. Source : Volpiano et al., 2022.



### 2.1.2. Fixation de l'Azote

Le di-azote ( $N_2$ ) représente 80 % de l'atmosphère terrestre, mais très peu d'organismes peuvent utiliser cette forme stable, la fixation de l'azote étant un procédé très coûteux en énergie pour rompre la triple liaison qui lie les deux atomes d'azote. Les formes de l'azote assimilables par les plantes sont l'ammonium ( $NH_4^+$ ) et surtout le nitrate ( $NO_3^-$ ). Les interactions symbiotiques plantes/bactéries fixatrices d'azote impliquent la mise place d'une structure fonctionnelle spécifique (le nodule symbiotique), et sont restreintes aux espèces de la famille des légumineuses (pois, soja, haricot, etc.) avec des bactéries du genre *Rhizobium*, ou aux plantes actinorhiziennes avec les bactéries du genre *Frankia*. Toutes les espèces végétales peuvent cependant interagir de façon moins étroite avec des bactéries fixatrices d'azote libres dans l'environnement, comme par exemple *Azospirillum*, *Azotobacter* et *Stenotrophomonas* (Ahemad and Kibret, 2014). Les apports d'azote à la plante par ces voies restent cependant modérés, et insuffisants à alimenter seuls la croissance de la plante (Ahemad and Kibret, 2014; Lugtenberg and Kamilova, 2009) (Fig. 4D).

### 2.1.3. Production de phytohormones

De nombreuses rhizobactéries (80% d'après Patten et Glick, 1996) sont capables de produire de l'auxine, qui contrôle de nombreux procédés chez la plante, dont la croissance et la défense contre les pathogènes (Ahemad and Kibret, 2014). L'auxine d'origine bactérienne favorise l'élongation racinaire, et facilite ainsi l'accès aux nutriments (Fig. 4B). De nombreuses espèces de champignons dans la rhizosphère produisent aussi des phytohormones qui servent à la mise en place de leur interaction avec la plante et qui ont un effet bénéfique sur sa croissance (Adedayo and Babalola, 2023).

## 2.2. Phytoprotection

### 2.2.1. Compétition, interférence, antagonisme

Plusieurs mécanismes microbiens peuvent contribuer à entraver les agents pathogènes. Premièrement, la compétition directe pour les ressources entre les microorganismes peut conduire à un ralentissement de leur développement. En effet, des bactéries particulièrement compétitives pour la captation des ressources présentes dans la rhizosphère, comme *Pseudomonas* et *Bacillus*, peuvent en limiter l'accès pour des pathogènes, et ainsi entraver leur développement au sein de cette niche (Lugtenberg and Kamilova, 2009).

Les bactéries de la rhizosphère peuvent aussi interférer avec des agents pathogènes telluriques en captant et dégradant les molécules signal impliquées dans le quorum sensing. Le quorum sensing est

un système de communication bactérienne qui leur permet d'adapter leur phénotype en fonction de leur nombre, et peut déclencher leur production de facteurs de virulence (Lugtenberg and Kamilova, 2009).

Par ailleurs, certaines bactéries dites « antagonistes » produisent des composés antimicrobiens. Par exemple, *Pseudomonas fluorescens* produit un antifongique, le diacetylphloroglucinol (Berendsen et al., 2012). D'autres antibiotiques comme le cyanure d'hydrogène, la phénazine, la pyoluteorine et la pyrrolnitrine, la zwittermycine A et la kanosamine sont produits par l'espèce bactérienne *Bacillus cereus* (Lugtenberg and Kamilova, 2009) (Fig. 4A).

Les champignons non pathogènes pourraient également jouer ce rôle de compétition pour les ressources avec les pathogènes fongiques (Alabouvette et al., 2009). Enfin les mycorhizes peuvent protéger les racines de la plante d'attaques par des agents pathogènes, en particulier via le manchon que beaucoup d'entre-elles sont capables de mettre en place autour des racines.

#### 2.2.2. Induction de la réponse systémique

Le mécanisme de résistance systémique induite (ISR ou SIR) est un état de protection généralisé de la plante contre tout type d'attaque qui peut survenir suite à sa sensibilisation par des microorganismes bactériens ou mycorhiziens de la rhizosphère (Fig. 4A) (Pieterse et al., 2014). Un des mécanismes de l'ISR repose sur la reconnaissance par la plante de certains composés microbiens comme la flagelline, le lipopolysaccharide, les sidérophores, ainsi que les acyls homosérine lactone et les lipopeptides cycliques (Lugtenberg and Kamilova, 2009). Il a été observé que les plantes peuvent recruter des microorganismes capables d'induire l'ISR, qui vont contribuer à la défense contre des agents pathogènes, et ce, même si ces derniers s'attaquent aux parties aériennes de la plante (Yuan et al., 2018). De plus, certains champignons mycorhiziens peuvent induire la réponse systémique chez les plantes, et transmettre un signal de l'ISR entre plantes avoisinantes (Berendsen et al., 2012).

Le constat des nombreuses fonctions bénéfiques des communautés microbiennes telluriques a suscité un intérêt croissant pour leur exploitation dans des stratégies de protection des cultures, ce qui a entraîné le développement de diverses méthodes de biocontrôle.

### 3. Mobilisation des microorganismes

#### 3.1. Définitions du biocontrôle

Le biocontrôle est défini par le contrôle des agents pathogènes ou des ravageurs par le biais d'organismes vivants. D'après Eilenberg et al. (2001), on peut distinguer deux types principaux de biocontrôle : le biocontrôle par augmentation, et le biocontrôle par conservation. Le biocontrôle par augmentation consiste à apporter des organismes exogènes. Ce type de biocontrôle est subdivisé en plusieurs sous catégories : classique, par inondation et par inoculation, selon l'origine, le développement et la persistance des organismes de biocontrôle (bien que dans le cas des microorganismes la distinction n'est pas pertinente). Le biocontrôle par conservation consiste à favoriser certaines espèces « bénéfiques » présentes dans les communautés naturelles en modulant l'environnement.

#### 3.2. Avantages et inconvénients des biocontrôles microbiens

Dans le cas du biocontrôle microbien, le biocontrôle par augmentation requiert l'identification, l'isolement et la culture de microorganismes qui peuvent inhiber les pathogènes visés. Une ou plusieurs espèces microbiennes peuvent ensuite être appliquées dans les parcelles, sur les plantes ou sur les graines, avant le semis. Ces microorganismes exogènes peuvent parfois persister dans l'environnement et modifier microbiome de la plante (Berg et al., 2021; Dal Cortivo et al., 2020).

Le biocontrôle par conservation consiste quant à lui à modifier l'environnement par les pratiques agricoles afin de sélectionner des microorganismes telluriques d'intérêt. En effet, comme décrit précédemment, les pratiques agricoles peuvent modifier certaines caractéristiques physico-chimiques du sol, et ainsi modifier l'abondance, la diversité ou la composition des communautés microbiennes (Delitte et al., 2021). Ces communautés peuvent ensuite agir directement sur le pathogène mais servent aussi de réservoir à la plante pour la constitution de son microbiome racinaire (Park et al., 2023; Philippot et al., 2013).

On peut par ailleurs parler de biocontrôle par acclimatation lorsque ces deux stratégies sont combinées ; en apportant des microorganismes exogènes et en modifiant l'environnement par les pratiques pour assurer leur maintien.

Bien qu'apparentées au biocontrôle de conservation, on peut distinguer dans cette catégorie les perspectives offertes par le choix variétal en fonction du potentiel d'interaction de la variété cultivée avec les microorganismes. Il s'agit là aussi de sélectionner le microbiome déjà présent, filtré par son recrutement dans la rhizosphère et la racines de la plante (Park et al., 2023).

Tableau 3 : Avantages et inconvénients des différentes approches de biocontrôle appliquées au biocontrôle microbien dans les grandes cultures.

|                              | <b>Avantages</b>   | <b>Inconvénients</b>   |
|------------------------------|--|--|
| Biocontrôle par augmentation | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Application directe sur les parcelles, plantes ou graines</li> <li>- Microorganismes déjà identifiés comme bénéfiques</li> </ul>            | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Maintien dans l'environnement incertain</li> <li>- Besoin d'optimiser les produits</li> <li>- Besoin d'autorisations</li> </ul> |
| Biocontrôle par conservation | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Microorganismes déjà adaptés à l'environnement</li> <li>- Pas de développement nécessaire (mobilisation de pratiques existantes)</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Indirect donc incertitude sur l'efficacité</li> <li>- Dépendant des conditions environnementales</li> </ul>                     |
| Sélection variétale          | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Peut s'appliquer quelles que soient les conditions environnementales</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Difficile à sélectionner, peut-être aux dépens d'autres traits</li> </ul>   |

La modulation du microbiome préexistant présente plusieurs avantages (Tab. 3). Premièrement, la présence des microorganismes témoigne de leur adaptation et compétitivité dans les conditions d'un environnement donné. Les microorganismes introduits pour le biocontrôle par augmentation ne sont pas forcément compétitifs pour les ressources face aux microorganismes autochtones. Cette méthode permet aussi de s'affranchir des barrières financières, techniques et légales quant à l'introduction d'organismes vivants dans un environnement. De plus, les microorganismes ont par nature un taux de croissance et une évolution rapide, ainsi qu'une certaine plasticité, ce qui favorise leur modulation par l'environnement. Cette approche ne nécessite pas de temps de recherche et développement pour l'élaboration d'un inoculum produit en grande quantité prêt à l'application, à l'inverse du biocontrôle augmentatif. De la même manière, le choix variétal guidé par différentes interactions des variétés avec le microbiome du sol est prometteur mais nécessite un processus de sélection long et difficile à évaluer.

Le potentiel de contrôle des agents pathogènes par les microorganismes issus du sol et de la rhizosphère est désormais connu. Cette observation a mené à d'importants efforts de criblage pour sélectionner des souches candidates pour le biocontrôle par augmentation, dont certaines ont été commercialisées. On sait aussi que certaines pratiques agricoles ont un effet sur les communautés microbiennes du sol. En revanche, l'effet des pratiques agricole sur le contrôle des pathogènes par l'intermédiaire de la communauté microbienne est encore peu documenté.

Pour mettre en œuvre des approches de biocontrôle par conservation, il est nécessaire de disposer d'informations sur ce qui conditionne la composition et l'activité du microbiome du sol, ainsi que son assemblage dans la plante. La variabilité dans la composition des communautés naturelles et la difficulté à prédire l'assemblage de communautés bénéfiques restent un frein à cette exploitation. Pour déterminer les conditions favorables à la suppression des bioagresseurs, il est possible de s'intéresser aux sols agricoles qui limitent naturellement les agents pathogènes, pour identifier les conditions propices à cette limitation. C'est notamment le cas de plusieurs études visant les sols suppressifs dont il est question dans la section suivante.

#### 4. Le cas des sols suppressifs

Certains sols peuvent limiter ou contrôler la capacité d'un agent pathogène à se développer. On parle alors de sols suppressifs, ou résistants (Schlatter et al., 2017). Un sol est dit suppressif lorsqu'un agent pathogène donné ne s'y développe pas ou moins, et ce, quand bien même les conditions propices à son développement sont réunies (Schroth and Hancock, 1982). A l'inverse, un sol qui ne limite pas le développement d'un agent pathogène pourra être qualifié de permissif, ou sensible. De nombreux sols suppressifs ont été décrits à travers le monde, pour des pathogènes bactériens ou fongiques, depuis plusieurs dizaines d'années (Kyselková and Moëne-Loccoz, 2012). On peut citer par exemple les sols naturellement résistants à *Fusarium oxysporum* en France (Alabouvette, 1986), à *Rhizoctonia solani* en Australie (Hayden et al., 2018) ou à *Streptomyces spp.* aux Etats-Unis (Rosenzweig et al., 2012).

L'origine du caractère suppressif des sols a longtemps été recherché dans sa composition chimique. Une origine microbienne a cependant fréquemment été établie par l'observation de la perte du caractère suppressif après stérilisation des sols. Historiquement, on distingue deux mécanismes de suppression : L'activité suppressive d'un sol peut être attribuée à l'ensemble de la communauté (suppression générale) ou à certains microorganismes particuliers (suppression spécifique). La suppression spécifique se distingue aussi du fait de son caractère transmissible, c'est-à-dire l'acquisition du caractère suppressif par des sols permissifs inoculés avec un faible pourcentage de sols suppressifs (Weller et al., 2002). Cependant, les études plus récentes ont mis en évidence la difficulté de dégager des mécanismes communs à l'origine de la suppression par le sol et ses déterminants microbiens.

Si l'antagonisme de certains genres, espèces ou souches ont été bien décrits, dans la plupart des cas, les microorganismes impliqués dans le caractère suppressif des sols ne sont pas précisément identifiés. Il semblerait que ce soit parfois la composition (Cha et al., 2016; Mendes et al., 2011; Siegel-Hertz et al., 2018), l'activité, les fonctions (Borrero et al., 2004) ou la structure des réseaux d'interactions des microbiomes (Ossowicki et al., 2020) qui expliquent ce phénomène. Il est donc essentiel de considérer le microbiome du sol dans son ensemble, d'autant plus que les microorganismes présents dans une communauté naturelle sont interdépendants au niveau des chaînes trophiques et peuvent fonctionner en synergie. En outre, il semblerait que les mécanismes à l'origine des effets suppressifs soient hautement variables et dépendent du type de sol, des systèmes de culture, et surtout du pathosystème en question (Garbeva et al., 2004; Löbmann et al., 2016; Postma et al., 2008). En effet, un sol suppressif pour un pathogène ou un hôte donné ne le sera pas forcément pour d'autres.

Le contrôle des agents pathogènes par les communautés microbiennes, qui est probablement à l'origine du caractère suppressif des sols, a été observé dans différents compartiments et à différents stades de développement des plantes. Les microorganismes du sol peuvent bloquer ou limiter la production de l'inoculum primaire avant le semis. Les microorganismes peuvent aussi entraver les pathogènes autour de la graine puis de la plantule au moment de la germination, et inhiber les pathogènes qui s'attaquent aux racines dans la rhizosphère. Dans ces exemples, l'effet suppressif serait dû à l'action de la communauté microbienne directement au contact de l'agent pathogène. Ce type d'effet suppressif peut résulter d'une compétition entre l'agent pathogène et les communautés microbiennes, de la production de composés antimicrobiens ou d'une prédation (Garbeva et al., 2004). L'inhibition directe du développement de champignons phytopathogènes par des microorganismes est appelée « fongistase » (Garbeva et al., 2011).

Les microorganismes peuvent aussi atténuer ou empêcher le développement d'un agent pathogène *in planta*, et donc, limiter l'apparition des symptômes. Dans ce cas, l'effet suppressif serait du fait de la phytostimulation ou de l'induction des défenses de la plante par son interaction avec un ou des microorganisme(s) présent(s) dans le sol (Pieterse et al., 2014; Yu et al., 2022).

Dans la littérature, les sols sont donc décrits comme suppressifs qu'ils limitent directement le développement des pathogènes, ou indirectement par l'intermédiaire de la plante hôte (Todorović et al., 2023). Dans la suite de ce manuscrit, nous proposons de distinguer ces deux mécanismes d'inhibition, directe et indirecte, qui ont lieu dans des environnements et par le biais de mécanismes distincts. Il est probable que ce ne soit pas les mêmes agents et/ou propriétés fonctionnelles des communautés microbiennes qui conditionnent l'inhibition directe (dont la fongistase) et indirecte des sols.

En résumé, le caractère suppressif des sols (1) est majoritairement d'origine microbienne, bien que les agents à l'origine de ce caractère et les conditions de sa réalisation ne sont pas toujours identifiés, (2) peut provenir de diverses fonctions microbiennes, dans plusieurs compartiments, de manière directe ou indirecte et (3) dépend du pathosystème considéré. Bien que l'origine du caractère naturellement suppressif de certains sols reste encore assez mal connue, il est probable qu'il résulte d'une combinaison des facteurs incluant caractéristiques physico-chimique du sol, et dans une moindre mesure, de l'impact des pratiques agricoles, qui déterminent la nature des communautés microbiennes.

Tableau 4 : Types et mécanismes possibles de contrôle microbien des pathogènes à l'origine des sols suppressifs.

| Compartiment      | Sol<br>↓  | Plante (rhizosphère, racines, phyllosphère)<br>↓ |  |
|-------------------|---|--|--|
| Mode d'action     | <b>Inhibition directe :</b><br>compétition, prédation, antagonisme... |  | <b>Inhibition indirecte :</b><br>phytostimulation, ISR |
| Origine/mécanisme | <b>Suppression générale :</b> communauté dans son ensemble            |  |  |
|                   | <b>Suppression spécifique :</b> antagonistes identifiés               |  |  |



## Récapitulatif n° 1 :

Dans un contexte de transition agroécologique, les microorganismes du sol et des plantes représentent une alternative prometteuse aux traitements phytosanitaires pour garantir la santé des cultures. Par de multiples mécanismes, ces microorganismes jouent en effet un rôle central dans le contrôle des bioagresseurs. Pour tenter de stimuler ce service, le biocontrôle par conservation propose la modulation des microbiomes autochtones par les pratiques agricoles. Pour être mis en place, le biocontrôle de conservation nécessite la connaissance approfondie des microorganismes à l'origine du contrôle des pathogènes et des facteurs qui influencent les communautés microbiennes. Si certains déterminants environnementaux de l'assemblage des microbiomes ont été identifiés, leur effet sur le service de contrôle des bioagresseurs sont encore peu connus. Dans cette optique, l'étude des capacités naturelles des sols à contrôler les pathogènes, dans différentes conditions, pourrait permettre de déterminer les conditions propices à la réalisation de ce service.

## 5. Le blé, holobionte d'intérêt

Le blé tendre (*Triticum aestivum*) est une espèce hexaploïde de la famille des *Poaceae*, dont la domestication remonte à 10 000 ans. Le blé est la première céréale cultivée dans le monde en termes de surfaces récoltées. Les variétés actuelles de blé ont été sélectionnées en fonction de traits comme la taille et le nombre de grains, leur teneur en protéine, et leur résistance aux agents pathogènes et ravageurs. Comme toutes les plantes, le blé est associé avec des microorganismes au niveau de ses parties aériennes (tiges, feuilles, épi...) et souterraines.

L'étude des communautés microbiennes présentes au niveau de la rhizosphère de différentes variétés de blé tendre a mis en évidence une prédominance des Actinobactéries, Acidobactéries, Bacteroidetes et Protéobactéries, ainsi qu'une prédominance des *Ascomycota*, *Chytridiomycota* et *Basidiomycota* pour les champignons, et des *Sarcomonadea*, *Thecofilosea* et *Imbricatea* pour les cercaires (Fan et al., 2017; Mavrodi et al., 2018; Rossmann et al., 2020).

Malgré les variations de diversité et de composition microbiennes dans le sol de réserve en fonction de ses caractéristiques et de son origine géographique, de l'itinéraire technique de la parcelle et du stade de croissance de la plante, on retrouve dans la rhizosphère du blé un même assemblage d'espèces de bactéries et de champignons (Schlatter et al., 2020). Ces espèces systématiquement associées au blé pourraient jouer un rôle clé dans sa croissance et sa nutrition. Certains taxons, retrouvés de manière récurrente dans la rhizosphère du blé, ne semblent pas dépendre du type de sol et de la variété, ce qui suggère l'existence d'un "core microbiome" du blé. La composition du microbiome rhizosphérique ne varierait que très peu entre les variétés de blé, et les variations seraient davantage expliquées par les différents types de sols, et dans une moindre mesure par les pratiques agricoles (Simonin et al., 2020).

On observe cependant quelques différences de microbiome entre les variétés, notamment lorsqu'elles sont génétiquement éloignées. Les variétés rustiques de blé auraient par exemple des réseaux d'interaction microbiens plus complexes dans leur rhizosphère : la sélection du blé aurait conduit à un recrutement de microorganismes plus spécialisés, et à un appauvrissement des interactions entre la plante et le microbiome rhizosphérique. Par ailleurs, le taux de mycorhization du blé, l'espèce de champignon concernée et la dépendance à cette symbiose dépendent des variétés étudiées, et seraient moindres pour les variétés "modernes" (Hetrick et al., 2011; Singh et al., 2012). Cela pourrait s'expliquer une fois de plus par la sélection de cultivars sur d'autres critères que la mycorhization, et les conditions de cultures dans des sols riches qui font que les plantes ont moins besoin de ce type de symbiose. L'effet du cultivar, bien que non négligeable, serait cependant

secondaire par rapport à d'autres facteurs comme les types de sols (Chen et al., 2019; Spor et al., 2020). Au champ, c'est principalement le type de sol et le stade de développement du blé qui impacteraient la composition du microbiome de la rhizosphère (Gdanetz and Trail, 2017). Cependant, le système de production global peut influencer la composition du microbiome racinaire bactérien du blé (Hartman et al., 2018). Des changements de diversité et de composition bactérienne ont également été observés dans la rhizosphère du blé en fonction de la fertilisation azotée (Kavamura et al., 2018; Liu et al., 2020). Certaines pratiques particulières peuvent aussi impacter les microorganismes d'intérêt pour la régulation des agents pathogènes du blé. Par exemple, l'irrigation aurait un effet défavorable sur une souche de *Pseudomonas spp* potentiellement phytoprotectrice (Mavrodi et al., 2018).

## 6. Le champignon phytopathogène *Fusarium graminearum*

### 6.1. La fusariose du blé

La fusariose est causée par un complexe composé d'une vingtaine d'espèces appartenant pour l'essentiel au genre *Fusarium*, dont les espèces majoritaires varient selon les années et les zones géographiques. Ce sont des champignons téléomorphes appartenant à la classe des ascomycètes, qui sont pathogènes de la quasi-totalité des espèces de céréales. La fusariose cause d'importantes pertes en s'attaquant à l'épi (Fusarium Head Blight, FHB), ce qui peut le stériliser mais surtout rendre les grains impropres à la consommation par la production de toxines. La principale est le déoxynivalénol, dangereux pour l'Homme et l'animal. Les symptômes typiques de fusariose incluent aussi la fonte des semis (Fusarium Seedling Blight) et la fusariose du collet (Crown rot). Parmi les espèces majoritaires en Europe et en Amérique du Nord, se trouve *Fusarium graminearum* (forme sexuée : *Giberella zae*)(Goswami and Kistler, 2004; Kaur et al., 2024).

Dans le cas du blé, le champignon colonise les feuilles, les tiges, et infecte la cavité florale à la floraison. *F. graminearum* passe l'hiver sur les résidus de culture et dans le sol (Fig. 5). Les champignons du genre *Fusarium* étant des saprophytes efficaces, ils pourraient subsister dans le sol pendant plusieurs années (Goswami and Kistler, 2004; Leplat et al., 2013).

Des facteurs comme l'humidité et la pluie au moment de la floraison et un précédent cultural comme le maïs favorisent la contamination du blé par *F. graminearum*. Les méthodes actuelles de contrôle de cet agent pathogène sont le labour pour enfouir les résidus de culture ou les fongicides appliqués de manière préventive, avant la floraison. Ces deux méthodes sont efficaces, mais il est désormais admis qu'elles peuvent avoir des effets négatifs à long terme sur la structure du sol et l'environnement (Haddaway et al., 2017; Tilman et al., 2002). La sensibilité du blé à *F. graminearum* dépend des variétés, mais aucune résistance totale n'a été identifiée à ce jour, la résistance du blé au FHB est strictement quantitative (Goswami and Kistler, 2004).

## 6.2. Interactions de *F. graminearum* avec le microbiome du sol et du blé

Les interactions de *Fusarium graminearum* avec le microbiome associé au blé au cours de son cycle sont décrites dans une revue de Karlsson et al. (2021). En résumé, le champignon interagit avec le microbiome du sol par présence dans celui-ci et sur les résidus de cultures. *Fusarium graminearum* interagit aussi avec le microbiome de la rhizosphère, des épis et des graines, aux différents stades critiques de développement de la plante (Fig. 5).

Les acteurs microbiens des sols suppressifs envers *Fusarium* spp. ont récemment été décrits dans une revue par Todorović et al. (2023). Dans le cas de *F. graminearum*, l'activité antagoniste *in vitro* de certaines genres bactériens tels que *Bacillus* (Adeniji et al., 2018; L. Chen et al., 2018; Zalila-Kolsi et al., 2016), *Pseudomonas* (Pal et al., 2001), *Paenibacillum* (He et al., 2009) et *Lysobacter* (Kim et al., 2019) a été démontrée. En conditions de culture ou en mésocosme, le rôle dans l'inhibition de l'agent pathogène de pratiques comme l'utilisation d'engrais verts ou de légumineuses dans la rotation a été mis en évidence. Une surabondance des bactéries des genres *Streptomyces* et *Burkholderia* dans des sols plus résistants a également été observée (Lisboa et al., 2015; Perez et al., 2008). Par ailleurs, la variété de blé pourrait influencer la présence de *F. graminearum* dans la rhizosphère, et la résistance du blé au pathogène en corrélation avec un changement du microbiome de la rhizosphère (Li et al., 2020).

Etant donnés (1) l'impact de *F. graminearum* sur une culture de haute importance économique, (2) les effets délétères sur l'environnement des méthodes actuelles de contrôle du pathogène, (3) l'interaction de *Fusarium* avec le microbiome du sol et de la plante au cours du cycle infectieux, et (4) l'identification d'antagonistes microbiens de *F. graminearum* issus des communautés naturelles du sol, le pathosystème blé-*Fusarium graminearum* représente un modèle d'intérêt pour les approches de biocontrôle par conservation. Or, les données concernant le contrôle *F. graminearum* par les pratiques culturales *via* la stimulation du microbiome restent rares.

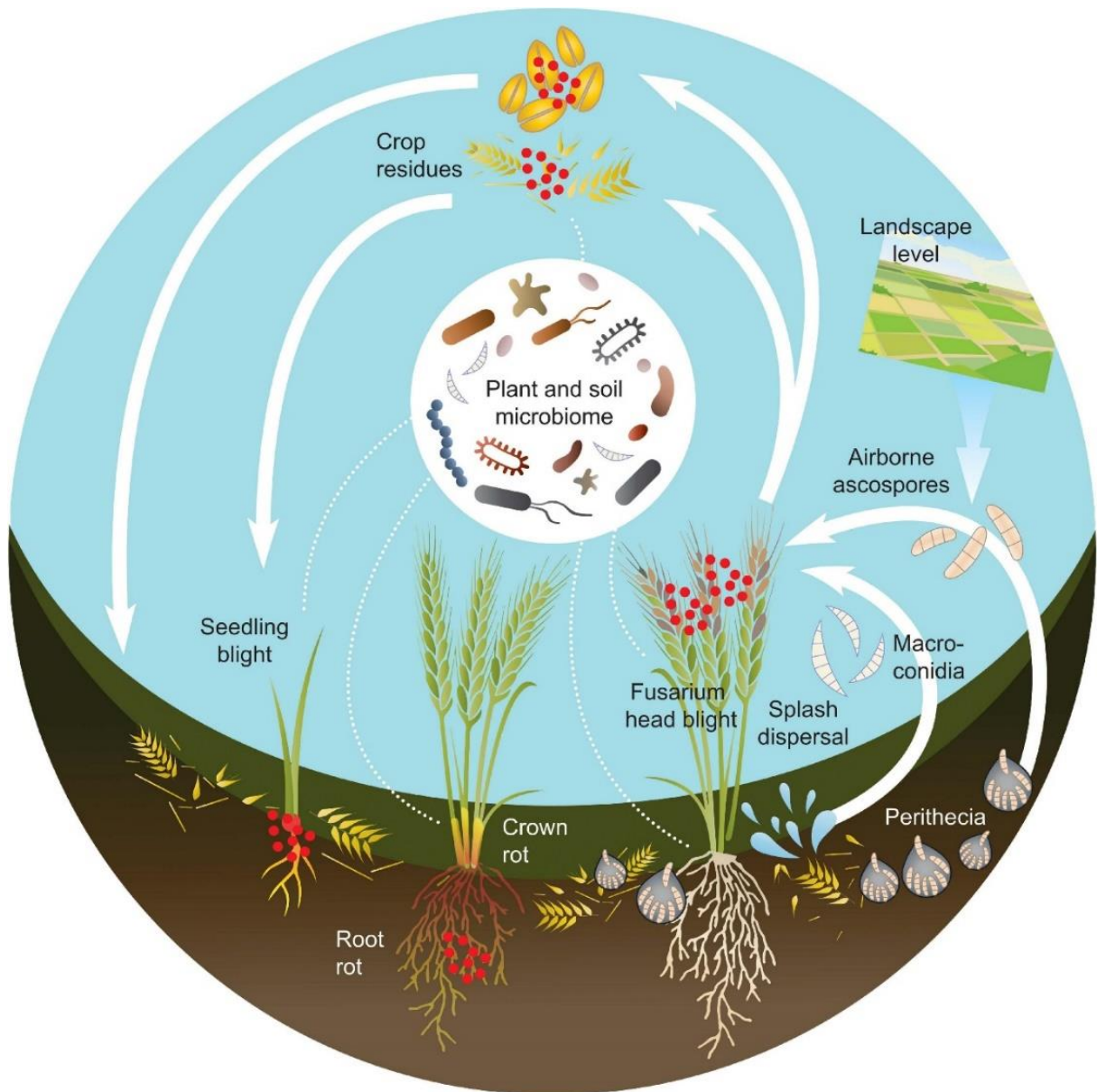


Figure 5 : Interactions de *Fusarium graminearum* avec le microbiome du blé au cours de son cycle d'infection. (Source : Karlsson et al., 2021)

## 7. Objectifs et dispositif expérimental de la thèse

### 7.1. Objectifs du projet de thèse

L'objectif de ce projet de thèse est d'évaluer le potentiel des pratiques agricoles à moduler le microbiome du sol et du blé, et son activité de régulation de *F. graminearum* (Fig. 6). Pour cela, le projet vise à répondre à deux questions de recherche :

1. Quels facteurs déterminent le caractère suppressif des sols vis-à-vis de l'agent pathogène *Fusarium graminearum* ?
2. Quelle influence l'environnement exerce-t-il sur l'assemblage du microbiome du sol et du blé ?

La première question consiste à évaluer la variabilité du pouvoir suppressif entre les sols, identifier les facteurs à l'origine de ces différences de suppressivité, et déterminer l'impact des pratiques sur la composition ou l'activité du microbiome.

La seconde se propose d'étudier la transmission du microbiome du sol à l'environnement racinaire afin de discriminer les rôles du réservoir microbien du sol, des facteurs environnementaux, des pratiques agricoles et de la plante dans l'assemblage du microbiome souterrain du blé.

Pour l'étude de ces questions, nous proposons les hypothèses suivantes :

1. Le type de sol influence les services rendus par le microbiome (et l'effet des pratiques varie selon le type de sol)
2. Les pratiques qui modulent l'environnement tellurique et la vie microbienne ont un potentiel de contrôle du pathogène (par l'augmentation de la suppression générale)
3. Le pool microbien du sol, influencé par les pratiques, détermine le microbiome recruté par la plante
4. La santé de la plante dépend de ce réservoir microbien

Afin de tester ces hypothèses, nous avons fait le choix d'un dispositif à grande échelle, en conditions de culture, sur un territoire délimité. Pour cela un dispositif regroupant 19 agricultrices et agriculteurs et 103 parcelles en plaine de Limagne (Puy-de-Dôme, France) (Fig. 7) a été mis en place. Les parcelles ont été choisies pour être représentatives de la plus grande diversité de pratiques et de types de sols possibles, tout en restant dans une zone restreinte de façon à limiter les variations climatiques





## 7.2. Diversité des types de sol

La plaine de Limagne est située à l'est de la chaîne des Puys et de la ville de Clermont-Ferrand (Puy-de-Dôme, France). La plaine couvre environ 200 000 hectares à une altitude moyenne de 350 mètres. C'est une formation sédimentaire, traversée par la rivière de l'Allier. On y retrouve trois types de sols principaux : des sols argilo-calcaires peu profonds à profonds (calcosols), des argiles lourdes et profondes (vertisols) et des sols d'alluvions sableux (fluvisols) (Fig. 7) (Nowak and Marliac, 2020).

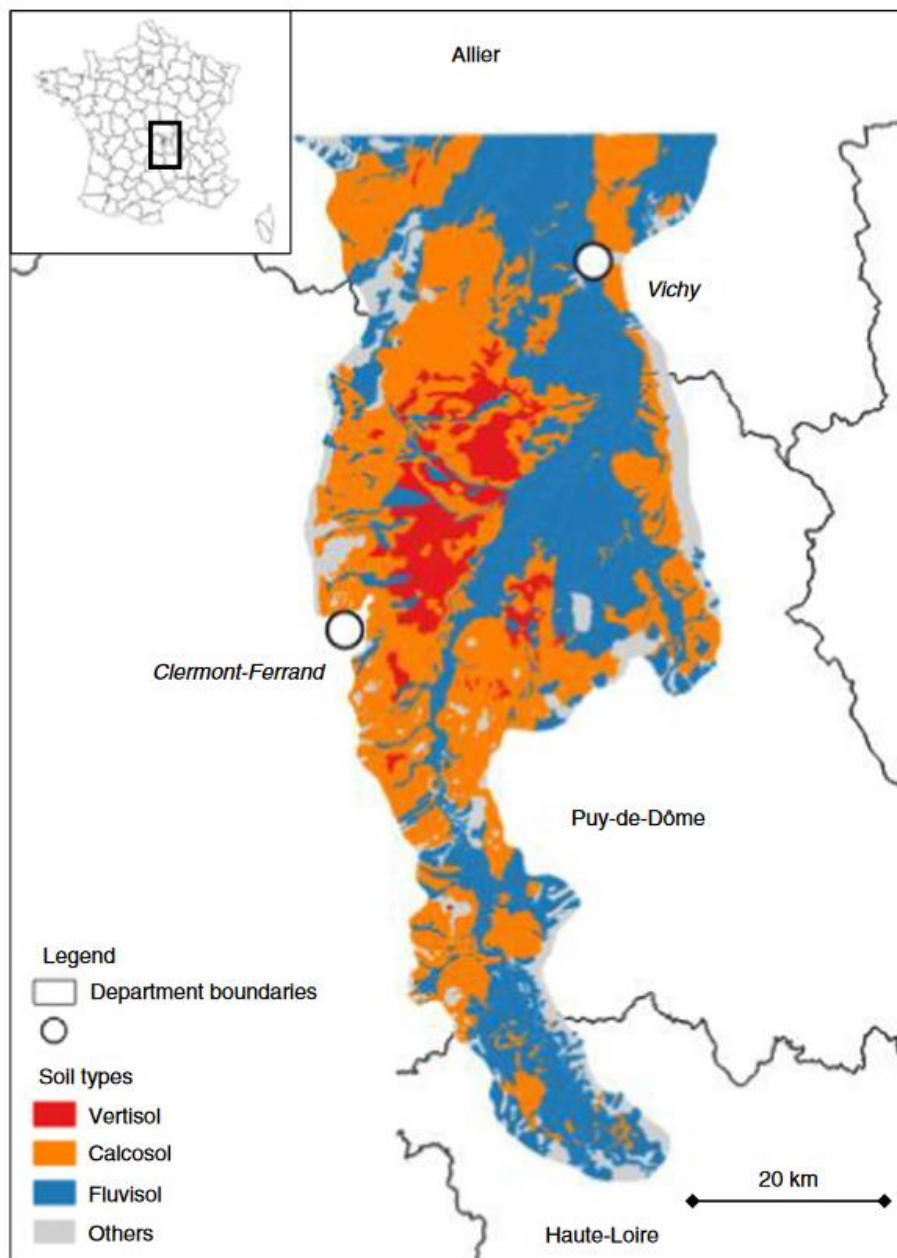


Figure 7 : Carte de la plaine de Limagne. Les couleurs représentent les principaux types de sols (Source : Nowak et Marliac, 2020).

### 7.3. Diversité des pratiques

L'utilisation dominante des terres arables en plaine de Limagne est la production de blé tendre et de maïs-grain (*Zea mays*) (Agreste, 2010). La production céréalière représente 64% de la superficie agricole de la plaine. Les cultures sont principalement conduites en agriculture conventionnelle, avec des rotations maïs/blé. Les rendements moyens des cultures de blé au cours des 30 dernières années se situent entre 6 et 7 t/ha.

Les exploitations agricoles mobilisées dans le projet se répartissent dans trois grands systèmes de culture : l'agriculture conventionnelle, l'agriculture de conservation et l'agriculture biologique (Tab. 5). Les parcelles exploitées dans ces systèmes depuis au moins cinq ans ont été priorisées. Ces catégories pouvant couvrir une grande diversité de pratiques agricoles, des enquêtes ont été menées auprès des agriculteurs pour définir précisément leurs interventions au cours de l'année de prélèvement et des cinq années précédentes.

Tableau 5 : Effectifs des agriculteurs et des parcelles prélevées par système de production et types d'échantillons.

|                           | Agriculture conventionnelle | Agriculture de conservation | Agriculture Biologique | Total |
|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------|-------|
| Nombre de parcelles (sol) | 60                          | 19                          | 24                     | 103   |
| Nombre de parcelles (blé) | 60                          | 19                          | 19                     | 98    |
| Nombre d'agriculteurs     | 9                           | 2                           | 8                      | 19    |

#### 7.4. Echantillonnage et collecte des données

Tous les prélèvements ont été réalisés en une semaine pour limiter les variations temporelles. En plus des données physico-chimiques, agronomiques et microbiennes collectées pour chaque sol, l'activité fongistatique des 103 sols a été mesurée *in vitro*. Parmi ces 103 parcelles, 98 étaient des cultures de blé l'année des prélèvements et ont servi à la collecte d'échantillons de rhizosphère et de racines (Tab 5). En fonction de leur pouvoir fongistatique, des sols ont été sélectionnés pour y cultiver du blé en conditions contrôlées et évaluer leur potentiel naturel d'inhibition de la fusariose de l'épi.

Pour caractériser les communautés de procaryotes du sol, de la rhizosphère et des racines, avons fait le choix de recourir au metabarcoding, en choisissant le séquençage de l'intégralité du gène ADNr 16S (« long reads ») par PacBio (Fig. 8). Cette méthode utilise, comme illumina, le séquençage par synthèse, à la différence qu'une seule molécule est formée puis séquencée en boucle (Single Molecule Real Time, SMRT). Cela permet un séquençage rapide, précis et à haut-débit, et réduit le nombre d'erreurs lors de l'amplification (Bharti and Grimm, 2021). Cette technique nous permet de bénéficier d'une base de données riche tout en augmentant nos chances d'identifier précisément les microorganismes.

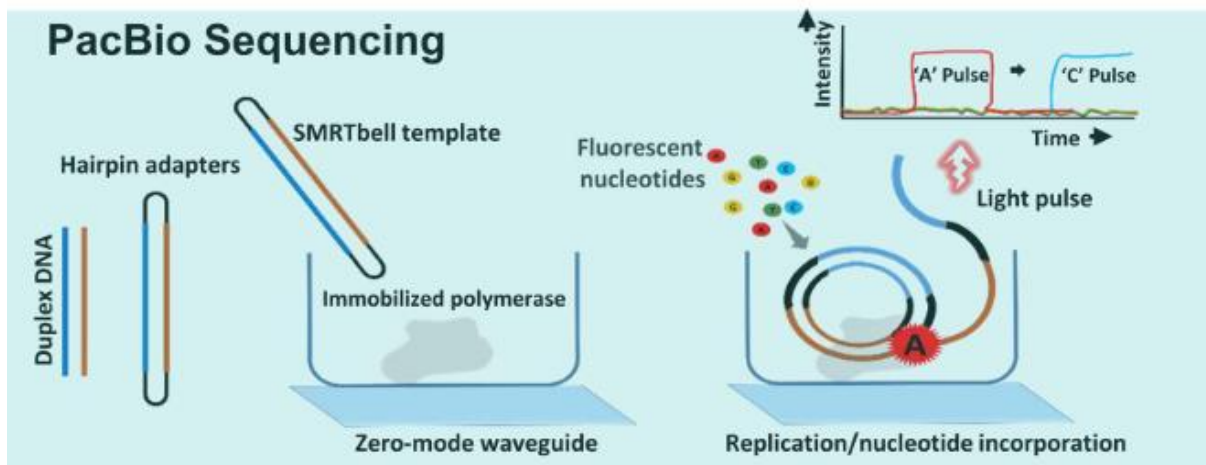


Figure 8 : Principe du séquençage PacBio. Cette technique utilise le séquençage par consensus circulaire (CCS). Chaque brin de l'ADN est séquencé en plusieurs tours et les séquences consensus des deux brins sont incorporées (Source : Bharti et al., 2021).

Grâce aux données collectées avec ce dispositif nous avons dans un premier temps analysé l'impact des pratiques et des caractéristiques physico-chimiques sur le pouvoir fongistatique du sol de réserve, présenté dans le chapitre 2 (article publié). Dans le chapitre 3, nous avons confronté ces résultats à la composition des communautés microbiennes présentes dans ces sols. Les déterminants de l'assemblage du microbiome souterrain du blé, et notamment le rôle de réservoir du microbiome du sol de réserve sont étudiés dans le chapitre 4 (article prévu pour soumission). Finalement, un lien entre composition des communautés microbiennes du sol et niveau de symptômes de fusariose en conditions contrôlées est recherché dans le chapitre 5. Les résultats et les perspectives du projet sont discutés dans le chapitre 6.

Ces travaux proposent ainsi d'évaluer le potentiel des pratiques culturales à moduler la composition du microbiome du sol et du blé, et son interaction avec *Fusarium graminearum* à différents stades du cycle d'infection. Dans l'ensemble, ces données visent à apporter des informations nouvelles, utiles au biocontrôle par conservation pour limiter l'impact de *F. graminearum* sur le blé.

## Chapitre 2 : impact des pratiques et du type de sol sur les propriétés fongistatiques

# Perennial soil characteristics are the main factor driving in vitro inhibition of the wheat fungal pathogen *Fusarium graminearum* in a French case study

Lena Simon<sup>1,2</sup>  | Thierry Langin<sup>1</sup> | Benjamin Nowak<sup>3</sup> | Gaëlle Marliac<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>INRAE, GDEC, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

<sup>2</sup>VetAgro Sup, Université Clermont Auvergne, Lempdes, France

<sup>3</sup>AgroParisTech, INRAE, VetAgro Sup, UMR Territoires, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand, France

## Correspondence

Lena Simon, UMR 1095 Génétique, Diversité et Ecophysiologie des Céréales, INRAE Site de Crouël, Université Clermont Auvergne, Clermont-Ferrand F-63000, France.  
Email: [lana.simonbousquet@gmail.com](mailto:lana.simonbousquet@gmail.com)

## Funding information

International Research Center on Sustainable AgroEcosystems (IRC-SAE, ISITE CAP20-25)

## Abstract

Soils are termed ‘suppressive’ when they can limit the emergence and propagation of plant diseases. However, little is known regarding what factors determine suppressiveness and whether they could be improved for a given soil. Agricultural practices, such as tillage systems, influence the properties of the soil, and could be a lever to improve soil suppression of pathogens. In this study, we investigated the impact of soil type and crop management practices on soil suppressiveness towards *Fusarium graminearum*, a major winter wheat (*Triticum aestivum*) pathogen. As it is transmitted via crop residues left on soil, *F. graminearum* is susceptible to soil suppression. Soil suppressiveness has been evaluated in more than a 100 sampled fields in the Limagne plain (Puy-de-Dôme, France), to represent a great diversity of soil types (either calcisol, vertisol or fluvisol) and cropping systems (organic, reduced tillage or intensive cropping systems). The physicochemical composition of the sampled soils and crop management practices, identified through farmer surveys, were included in a generalized linear mixed-effect model to explain soil fungistasis. A fungistasis test was performed by putting a plug of PDA-agar inoculated with *Fusarium* in contact with the soil and measuring the area of fungal growth. This test revealed a wide variety of soil fungistatic properties, ranging from conducive soils (22% of soil covered by fungal growth) to very suppressive soils (1% of soil covered). Suppressiveness was related to soil perennial properties ( $p$ -value  $<.001$ ) rather than practices. Overall, these results show that soil type and composition play a key role in fungistasis, and that soil suppressiveness is a complex, multifactorial process.

## KEYWORDS

agroecology, agroecosystem, crop diseases, fungistasis, fusarium head blight, soil ecosystem services

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2023 The Authors. *Soil Use and Management* published by John Wiley & Sons Ltd on behalf of British Society of Soil Science.

## 1 | INTRODUCTION

More and more attention is given to the opportunities to harness soil ecosystem services that could play a part in pest regulation. In particular, soil microorganisms are critical to ecosystem services: they are involved in biogeochemical cycles that take place in the soil, they promote soil resilience and stability, and they interact directly with plants and plant pathogens (Ahemad & Kibret, 2014; Banerjee & van der Heijden, 2023; Welbaum et al., 2004). In some cases, soils can even prevent or directly limit the diseases caused by soil-borne crop pathogens. These soils, called suppressive, are defined by their capacity to limit the occurrence of disease even in presence of the pathogen (Scher & Baker, 1980). This property is therefore an interesting opportunity to limit the use of pesticides in agriculture.

The origin of soil suppressiveness is thought to be the soil microbiome, as is suggested by the complete or partial loss of the suppressive properties after sterilization (Boer et al., 1998; Scher & Baker, 1980). Despite the efforts to study soil suppression, descriptions of this phenomenon in situ are still lacking. Often, attention is given to particular strain of antagonist or synthetic communities, but the functioning of the microbiome is highly dependent on environmental conditions and interactions within the community (de Boer et al., 2019). Moreover, uncultured microbes could play a part in soil suppressiveness. The overall microbial diversity, abundance and activity that enable competition with pathogens are the result of soil perennial physicochemical properties such as carbon, pH or clay content. The microbiome is also shaped by variable soil properties (nitrogen, phosphorus, potassium and organic matter content) as well as overall land use (Mhete et al., 2020; Weyman-Kaczmarkowa & Pędziwilk, 2000; Xue et al., 2018). Crop management techniques can directly or indirectly impact the soil microbial life and activity (Welbaum et al., 2004). For instance, soil tillage, fertilization or liming modulate soil properties such as structure (Alletto et al., 2010), organic matter, nutrient content, and pH, while it has been shown that these properties influence soil microbiome. For example, higher organic carbon content promote soil microbial diversity (Esmailzadeh-Salestani et al., 2021). These various management practices consequently affect specific soil properties involved in pathogen control and soil fungistasis, i.e. the limitation of fungal growth and development by the soil. It has notably been observed by Palojarvi et al. (2020) that reduced tillage and no tillage increased soil suppressiveness towards *Fusarium culmorum* relatively to tilled soil. Additionally, soil variable characteristics could respond differently to agricultural practices (Viaud et al., 2018) and we lack the knowledge on the effects of agricultural practices on various soil types on fungistasis potential.

Part of the life cycle of *Fusarium graminearum* (Fg) occurs within the soil and could be affected by soil suppression. This fungus is the main species responsible for Fusarium Head Blight (FHB), one of the most important cereal diseases worldwide. *F. graminearum* produces toxins *in planta*, such as deoxynivalenol, that are harmful for animals and humans (Schmale III & Bergstrom, 2003). FHB decreases yield and causes major losses each year in Europe and the USA (Goswami & Kistler, 2004). To this day, the preventive use of fungicides remains one of the main resorts to fight FHB, along with agronomic practices such as crop rotation and soil tillage to bury crop residues. To better control this pathogen, it is fundamental to understand what determines its suppression in the top layer of soil, in contact with the crop residues. We hypothesized that soil fungistasis could be influenced by (i) soil perennial properties and (ii) agricultural practices through the variation of soil variable properties. We also hypothesized that practices such as organic amendments, residues management and cover crops that promote microbial diversity and activity might stimulate soil suppressiveness. To test these hypotheses, we provided a simple and efficient assessment of soil fungistatic properties towards *F. graminearum*, with samples from farm plots described with a detailed record of crop management practices. We sampled over a hundred plots in Limagne, Puy-de-Dôme (France), an important region with respect to cereal production, and often faced with important losses caused by FHB. To maximize the diversity of the crop management practices, we selected 19 farms conducted in either intensive or agroecological (organic or soil conservation) agriculture. This substantial sampling also allowed us to base this study on three soil types representative of this area. The aim of this study is to determine which physicochemical and agronomic factors could enhance soil fungistasis. This project is based on a large-scale approach to better represent field conditions and include several environmental factors.

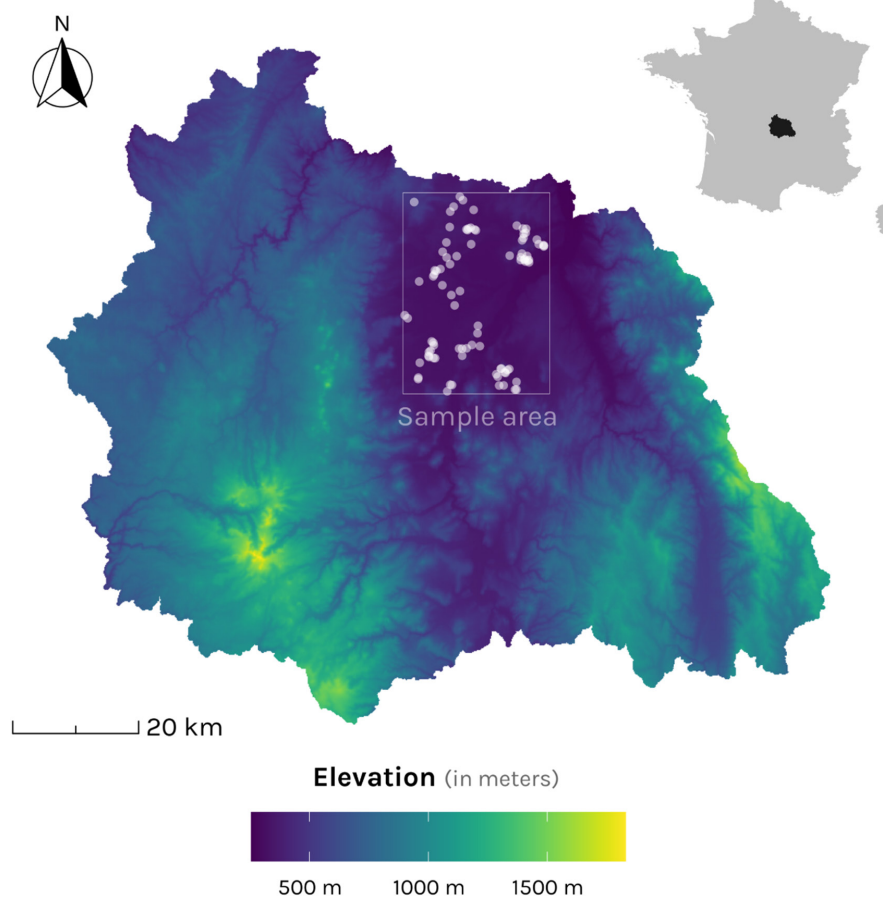
## 2 | MATERIALS AND METHODS

### 2.1 | Context of the study area

The Limagne plain is a sedimentary formation, near the city of Clermont-Ferrand and crossed by the Allier River (Puy-de-Dôme, France, latitude: 45°53'13.73" N, longitude: 3°14'20.19" E) (Figure 1). It covers about 200,000 ha at an average elevation of 350 m. Pedogenesis has produced three main soil types: shallow to deep calcareous clay soils (calcisols), heavy and deep clays (vertisols) and sandy alluvium soils (fluvisols). The three main types of soils represented in the Limagne plain are notably distinguished by clay percentage, calcium carbonate percentage, pH(H<sub>2</sub>O),



**FIGURE 1** Sampling area in the department of Puy de Dôme, France. The samples were taken in the area inside the rectangle, that is approximately 25 km wide and 30 km long.



density and rock fragments (>2 mm) percentage (Nowak & Marliac, 2020; World Reference Base, FAO, n.d.).

The dominant arable land use is production of winter bread wheat (*Triticum aestivum*) and grain maize (*Zea mays*) (Agreste, 2010). Cereal production represents 64% of the agricultural area of the plain. The crops are mainly managed with intensive practices, with maize/wheat rotations. The average yields for wheat crops over the last 30 years range between 6 and 7 t/ha. Plots with maize in the rotation are often irrigated, and some of the plots use cover crops, mainly in conservation and organic farming.

The climate is semi-continental, and a mountainous relief to the West generates a Foehn effect that greatly reduces rainfall: the average annual precipitation was 573 mm between 2000 and 2018 (Météo France, 2019). For the same period, the mean annual temperature was 12.2°C. The average thermal amplitude is moderate (difference of 16.4°C between the average temperature of the hottest and coldest month) but extreme events can occur, especially during the summer when there are periods of several days with temperatures above 40°C. For the year of sampling, annual precipitation was 575.30 mm and average temperature was 13.0°C (Météo France, 2022).

## 2.2 | Plot characterization

Samples were taken from 103 plots from 19 farms in the plain of Limagne (Figure 1). The diversity of agricultural practices in the sample was maximized by selecting eight farms (24 plots) under organic farming, two (19 plots) under conservation farming, with minimum soil tillage (no ploughing) and use of cover crops and nine (60 plots) managed with intensive practices. Organic farming is defined by the absence of phytosanitary treatments and the use of organic amendments. Conservation farming aims to reduce soil tillage, as well as to diversify and maximize soil cover. Intensive farming can resort to soil tillage and/or phytosanitary treatments and is often less diversified regarding crop rotation.

Since these broad categories may cover a wide diversity of agricultural practices, surveys were conducted to define them more precisely. Agricultural practices during the year of sampling were characterized in detail for each plot with the farmers. The plots were characterized by agricultural practices that were relevant regarding microbial activity and fungistasis, i.e. practices that can influence soil organic matter, structure, and pathogen load.



Variables included in agricultural practices analyses comprised the sensitivity of the previous crop to *Fg*, the previous crop residue management, the type of soil tillage, organic amendments, the amount of nitrogen per hectare, the number of months without soil cover previous to the crop of the sampling year and the Treatment Frequency Index (TFI) (Table 1). The TFI is an indicator used to monitor pesticide use in European agriculture (Butault et al., 2011). This index corresponds to the number of full registration doses of the commercial products applied during the season (Jørgensen, 1999). It is calculated for each plot by adding every treatment performed on that plot with the following formula:

$$TFI = \sum \frac{\text{Applied Dose}}{\text{Reference Dose}} \times \frac{\text{Treated Surface}}{\text{Total Surface}}$$

The reference doses are provided by the French ministry of agriculture (Ministère de l'agriculture et de l'alimentation, 2022). These practices were differentially represented among the three main systems from which the plots originated. These data reflect the principles of each system with, for instance, no phytosanitary treatments or

mineral fertilization on organic plots, and no soil inversion tillage in conservation agriculture (Table 2).

## 2.3 | Soil sampling

Bulk soil samples were collected in May 2021 during the wheat flowering period. The samples were taken at least 4 m from any border, at a 150 mm-depth. Five sampling points separated by 2 m were chosen for each plot and pooled. All the equipment was disinfected with ethanol between every plot.

## 2.4 | Physico-chemical analysis

The texture of the soil (clay, silt, and sand fractions, NF X31-107), and its chemical properties i.e. pH(H<sub>2</sub>O) (NF ISO 10390), available phosphorus (Olsen method, NF ISO 11263), exchangeable potassium (NF ISO 23470), organic matter concentration (NF ISO 14235), carbonates concentration (NF 10693), Cationic Exchange Capacity (CEC) (NF ISO 23470) and DTPA-extracted iron and copper (NF X31-121) were measured by an agronomic analysis laboratory (SADEF).

TABLE 1 Agricultural practices variables included in the model.

| Variable                        | Type       | Encoding   | Min | Max   |
|---------------------------------|------------|--|-----|-------|
| Previous crop sensitivity       | Discrete   | 0 = previous crop is not host to <i>Fusarium</i><br>1 = previous crop is host to <i>Fusarium</i> | 0   | 1     |
| Crops residue management        | Discrete   | 0 = residues were removed<br>1 = residues were left on the plot                                  | 0   | 1     |
| Organic fertilization           | Discrete   | 0 = no organic fertilization<br>1 = organic fertilization  | 0   | 1     |
| Soil tillage                    | Discrete   | 0 = no tillage<br>1 = reduced tillage<br>2 = inversion tillage                                   | 0   | 2     |
| Mineral N                       | Continuous | kg/ha of nitrogen during the year of sampling and before sampling                                | 0   | 181.9 |
| Soil cover                      | Discrete   | Number of months without crops   | 0   | 4     |
| Treatment frequency index (TFI) | Continuous | As calculated according to official dosage of each treatment (1 full dose = 1 unit)              | 0   | 6.24  |

|                              | Intensive | Conservation | Organic |
|------------------------------|-----------|--------------|---------|
| Residues left on plot        | 86%       | 95%          | 42%     |
| Organic fertilization        | 6%        | 0%           | 37%     |
| No tillage                   | 4%        | 63%          | 0%      |
| Reduced tillage              | 50%       | 37%          | 73%     |
| Average mineral N (kg/ha)    | 167.2     | 173.5        | 0       |
| Average months without cover | 1.2       | 0.5          | 0.5     |
| Average TFI                  | 2         | 3.5          | 0       |

TABLE 2 Agricultural practices representation among the three management systems. Discrete variables are expressed as percentages and continuous variables with their mean in each category.

## 2.5 | Fungistasis test

The method used to assess fungal growth and soil suppressiveness was adapted from the surface method from Boer et al. (1998).

We used the strain *MDC\_Fg1* previously isolated in field experiments (Alouane et al., 2021). Each soil was air dried after sampling and stored at room temperature before use. The samples were rehydrated with sterilized water to reach 33% of water content 8 days prior to the experiment. For every sample, 20 g of soil were placed in Petri dishes. The soils were then hydrated to reach water saturation. Discs of potato dextrose agar (PDA) medium were placed on the soil and inoculated with 100  $\mu$ L of a suspension of *Fg* spores ( $10^6$  spores/mL). Each soil inoculation was replicated three times. The dishes were then sealed with parafilm and incubated for 6 days at 23°C. Controls consisted of the same inoculated discs deposited in empty Petri dishes. Spore germination was measured after 6 days by image analysis with Fiji software from photos of the dishes. The area of hyphae development was used as the indicator for fungal growth, and expressed as a percentage of surface covered.

## 2.6 | Statistical analysis

The data was analysed with R software (version 4.0.5). The perennial physical (clay, silt and sand portions) and chemical (pH, CEC, iron and carbonates content) characteristics of the soils were used to project all plots in a Principal Components Analysis, and a hierarchical clustering on Principal Components was performed to classify soil in 5 subgroups. Only clay and sand were included to describe soil texture to avoid redundancy. Clustering was performed with the 'FactoMineR' package, and results were plotted with the 'factoextra' package. A generalized linear mixed model was then constructed following a quasi-binomial distribution with the glmmPQL function of the "MASS" package. The model included (i) soil perennial characteristics through the clustering output, (ii) soil variable characteristics (copper, phosphorus, potassium and organic matter), and (iii) agricultural practices (TFI, tillage, previous crop, residues), and (iv) the interaction between previous crop and residues. Pseudoreplication for each plot in the fungistasis test was included as a fixed effect. Collinearity of the model variables was analysed beforehand with the package 'olsrr'. Independence of the residuals was tested with a Durbin-Watson test ('car' package), followed by a Shapiro-Wilk test to assess the normality of the distribution using the 'stats' package. Pairwise comparisons of the clusters were performed on the output of the model with Tukey tests, with the 'emmeans' package.

## 3 | RESULTS

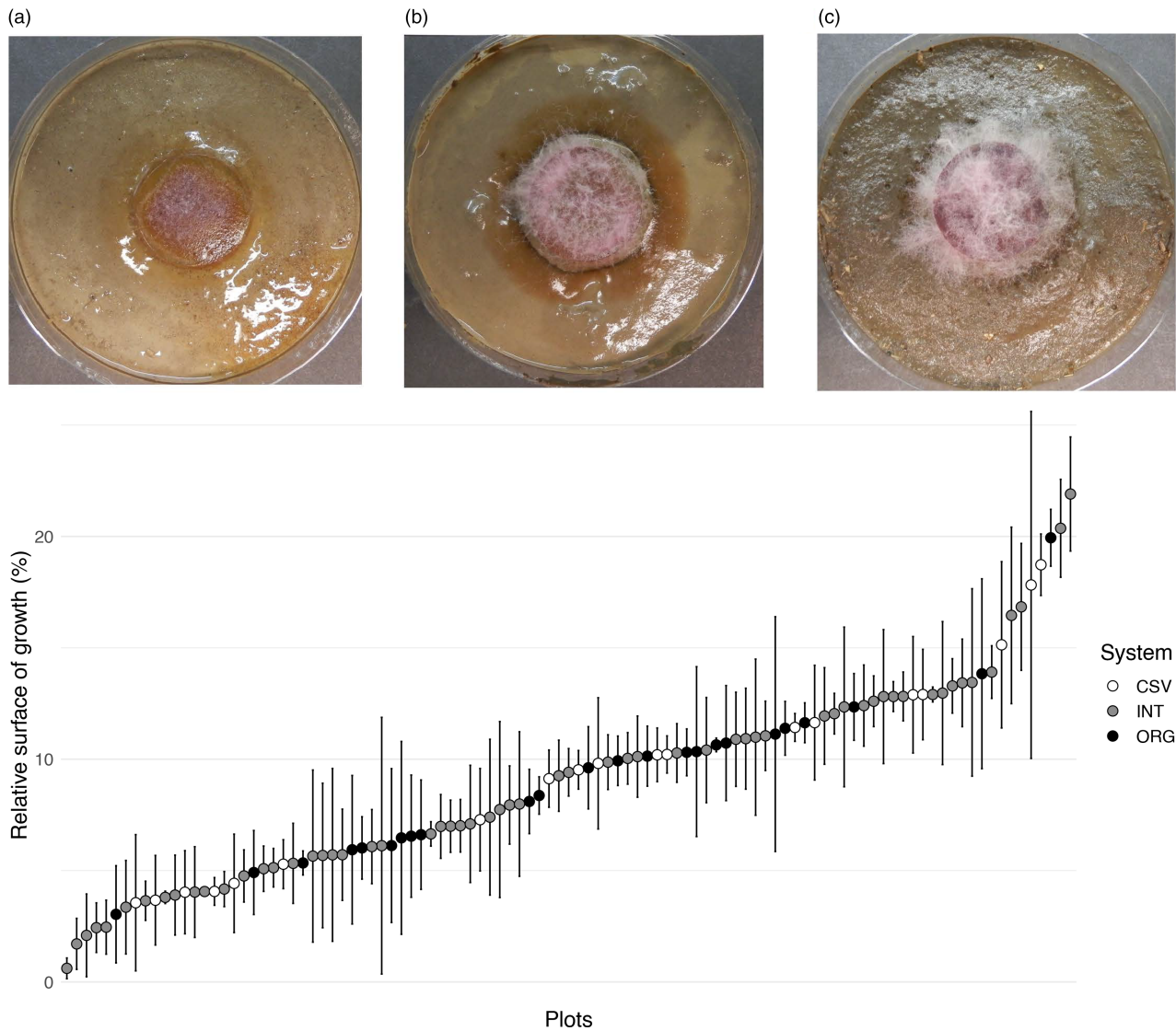
### 3.1 | Soils vary in suppressive potential

There was a wide variety in the responses of the soils to the strains. The *MDC\_Fg1* strains showed hyphal growth ranging from 1% to 22% of the surface of soil with a mean of 9.00%, with the more permissive soils allowing growth more than 20-fold the growth of the more suppressive ones (Figure 2). All soils diminished fungal growth compared to the control that covered 79% of the surface of the Petri dish. High fungal growth was considered as the expression of a permissive soil, i.e. with low fungistatic potential. Low fungal growth was attributed to suppressiveness and high fungistatic potential. The eight most conducive soils seemed to differ from the rest of the distribution with an average growth exceeding 15%, whereas the rest of the values were equally distributed around the mean. There was no significant difference of fungal growth on soils from organic, conservation and intensive farming ( $p$ -value = .8533). All three systems presented soils with high, low and intermediate suppressive properties.

### 3.2 | Diversity of soils across the Limagne plain

The soils were grouped into five clusters, determined by their texture i.e. clay and sand content, as well as CEC, pH, iron, and carbonates content (Table 3). These variables explained 56.6% of the variance in the first axis and 24.9% in the second. The variables that contributed the most to the first axis of the PCA are the Iron, CEC, and sand content (respectively 20.8%, 20.7% and 19.6%), and the carbonates, clay content, and pH for the second axis (respectively 33.4%, 22.4% and 18.6%).

The first cluster, comprised of 12 soils, is composed of the most sandy soils with highest iron concentration, lowest pH, CEC, and carbonates content (Table 3). The second cluster consists of 16 sandy to silty soils (the average sand fraction of 388 g/kg being above the overall mean but lower than the first cluster) with no difference in pH, iron or carbon, and a significantly lower CEC. The third cluster (17 soils) represents clay soils with a pH slightly more acidic than average, higher iron content and less carbon. The fourth cluster (26 soils) consists of silty alkaline soils with high carbon and low iron concentration. Finally the fifth cluster (32 soils) includes alkaline clay soils, with high CEC and low iron content.



**FIGURE 2** Relative growth of *Fusarium graminearum* on soils from 103 plots representing three types of crop management. Soils that exhibit smaller fungal growth are the most suppressive. Black (ORG)=organic farming, tillage, no pesticides; white (INT)=intensive farming, tillage, pesticides; grey (CSV)=soil conservation farming, no tillage, pesticides. Dots show the mean value for each soil sample and the errors bars show the standard deviation between the three replicates. Pictures featured above are examples of (a) suppressive, (b) intermediate and (c) conducive soils.

| Variable   | Mean in cluster 1 | Mean in cluster 2 | Mean in cluster 3 | Mean in cluster 4 | Mean in cluster 5 | Overall mean |
|------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------|
| Clay       | <b>205***</b>     | <b>348***</b>     | <b>588***</b>     | 443               | <b>587***</b>     | 469          |
| Sand       | <b>542***</b>     | <b>388***</b>     | <b>174**</b>      | 216               | <b>151***</b>     | 254          |
| Carbonates | <b>0.00**</b>     | 45.50             | <b>1.59***</b>    | <b>215.96***</b>  | 57.72             | 79.78        |
| Fe         | <b>95.17***</b>   | 18.35             | <b>47.76**</b>    | <b>10.18***</b>   | <b>14.88**</b>    | 29.02        |
| pH         | <b>6.65***</b>    | 7.94              | <b>7.04***</b>    | <b>8.20***</b>    | <b>8.02**</b>     | 7.73         |
| CEC        | <b>141.17***</b>  | <b>287.38**</b>   | 391.8             | 372.0             | <b>438.91***</b>  | 356.02       |

**TABLE 3** Soil physicochemical characteristics of each cluster.

*Note:* Variables whose mean in the cluster significantly differ from the overall mean after a  $\nu$  test (Husson, Lê and Pagès, 2016) are in bold. Lighter and darker cells signify significantly lower and higher values, respectively. Carbonates = total  $\text{CO}_3^{2-}$  (g/kg); CEC = cation-exchange capacity with cobalt-hexamine method (mEq/kg); Clay = soil particles  $<2\mu\text{m}$  (g/kg); Fe = Iron measured with DTPA method (mg/kg); pH = pH  $\text{H}_2\text{O}$ ; Sand = soil particles  $>50\mu\text{m}$  (g/kg).

Significance codes: \* $p < .05$ , \*\* $p < .01$  and \*\*\* $p < .001$ .

### 3.3 | Effects of soil type and agricultural practices

The generalized mixed model including soil type cluster, soil organic matter content, phosphorus, potassium, copper, TFI, tillage type, previous crop sensitivity to *Fg*, the management of residues, mineral nitrogen fertilization, and soil cover revealed that only soil cluster significantly affected soil fungistasis ( $p$ -value = .0005) (Table 4). Variable soil characteristics as well as agricultural practices did not influence fungal growth significantly in this model.

The output of the model was used to compare fungistatic potential between the five soil type clusters (Figure 4). The results were significantly different between soils of cluster 3 and clusters 1 ( $p$ -value = .0046), and 5 ( $p$ -value = .0094). Cluster 1 presented the lowest average value for fungal growth (5.6%), thus gathering the most suppressive soils. The highest values of fungal growth were found in cluster 3 that also presented the highest mean (10.3%). This cluster represents soils with the highest clay content, a relatively low pH, high iron and low carbon concentration.

**TABLE 4** Analysis of deviance table (Type II Wald chi-squared tests) of the linear mixed-effect model including soil cluster and agricultural practices variables.

|                         | Value | Std. error | DF  | $t$ -value | $p$ -value |
|-------------------------|-------|------------|-----|------------|------------|
| (Intercept)             | -3.49 | 0.79       | 120 | -4.41      | .00        |
| Previous crop           | -0.32 | 0.48       | 42  | -0.67      | .51        |
| Residues                | -0.05 | 0.46       | 42  | -0.11      | .91        |
| Reduced tillage         | 0.44  | 0.24       | 42  | 1.88       | .07        |
| Inversion tillage       | 0.32  | 0.27       | 42  | 1.19       | .24        |
| Organic matter          | 0.01  | 0.01       | 42  | 1.05       | .3         |
| P                       | -2.57 | 2.04       | 42  | -1.26      | .21        |
| K                       | -0.13 | 0.32       | 42  | -0.41      | .68        |
| Cu                      | 0.04  | 0.03       | 42  | 1.68       | .1         |
| TFI                     | 0.07  | 0.08       | 42  | 0.94       | .35        |
| Cluster 2               | 0.45  | 0.27       | 42  | 1.68       | .1         |
| Cluster 3               | 1.12  | 0.3        | 42  | 3.75       | .00***     |
| Cluster 4               | 0.46  | 0.33       | 42  | 1.4        | .17        |
| Cluster 5               | 0.18  | 0.33       | 42  | 0.55       | .58        |
| Cover                   | -0.07 | 0.21       | 42  | -0.34      | .73        |
| N fertilization         | 0     | 0          | 42  | -0.11      | .92        |
| Organic fertilization   | 0.03  | 0.31       | 42  | 0.11       | .91        |
| Previous crop: Residues | 0.37  | 0.52       | 42  | 0.7        | .49        |

Note: Formula =  $fg - \text{previous. crop} \times \text{residues} + \text{tillage} + \text{Organic Matter} + \text{P} + \text{K} + \text{Cu} + \text{IFT} + \text{cluster} + \text{cover} + \text{N fertilization} + \text{Organic fertilization}$ , random =  $\sim 1$  | plot.

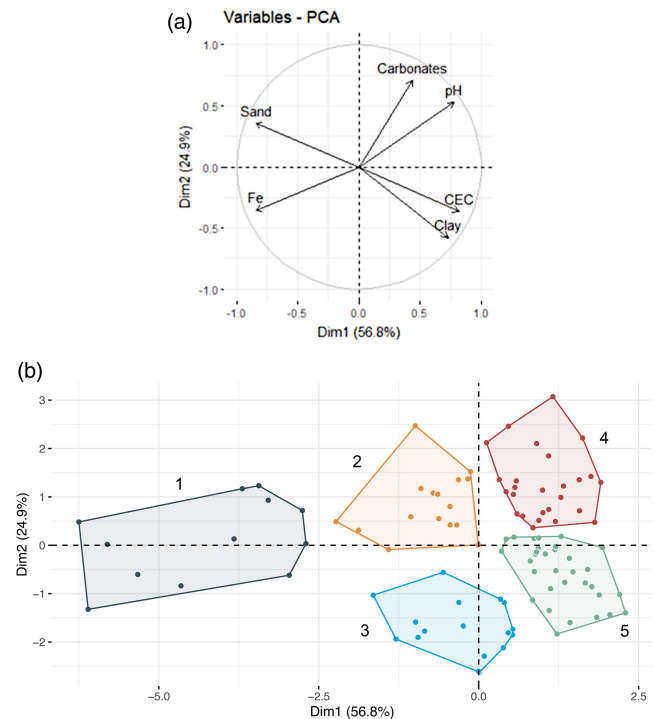
Significance codes: \* $p < .05$ , \*\* $p < .01$  and \*\*\* $p < .001$ .

Soils belonging to this cluster tended to be more conducive to *Fg*, i.e. exhibit weaker suppressive properties.

Clusters 2, 4 and 5 presented average fungal growth of respectively 9%, 9.6% and 9.0% (Figure 3). Clusters 2 and 4 did not differ significantly from the other clusters.

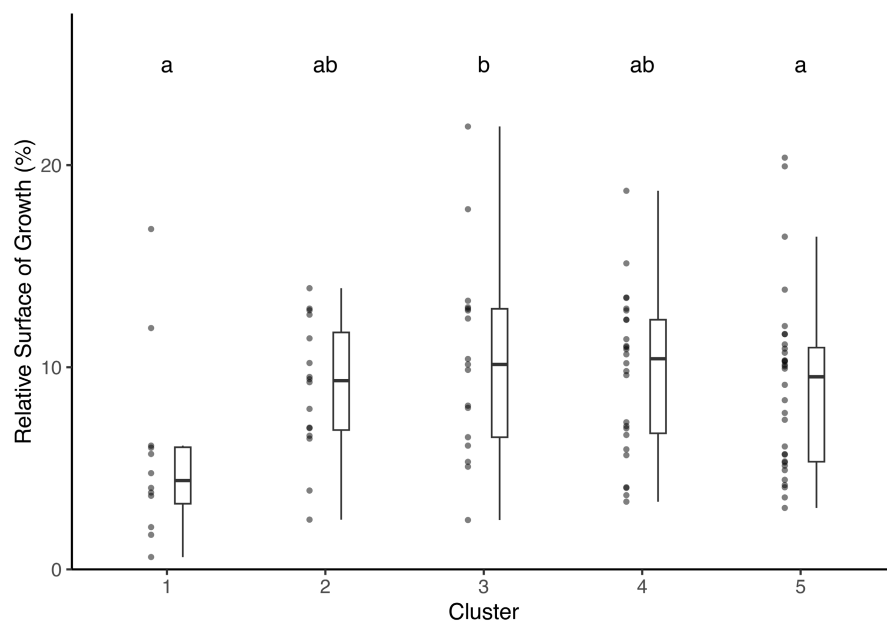
## 4 | DISCUSSION

With an experimental design that reproduces the development of *Fusarium graminearum* in the field, this study showed striking differences in the suppressive power of soils against this fungus, even though the soil samples originated from a restricted area (approximately 750 km<sup>2</sup>) (Figure 1). The most suppressive soil almost completely inhibited the growth of *Fusarium graminearum* (Figure 2). Although the absolute difference between the most and least suppressive soil was relatively limited compared to the control, this inhibition of pathogens in their saprotrophic stage at the field level could determine the potential for disease outbreak. These results should be put in perspective by other work regarding the suppression mechanisms that occur at different phases of the fungal



**FIGURE 3** Hierarchical Clustering on Principal Components of soil samples based on perennial characteristics. (a) PCA of the perennial soil characteristics. Carbonates = total CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> (g/kg), CEC = Cation-Exchange Capacity with cobaltihexamine method (mEq/kg); Clay = soil particles <2 μm (g/kg); Fe = Iron measured with DTPA method (mg/kg); pH = pH H<sub>2</sub>O; Sand = soil particles >50 μm (g/kg). (b) Hierarchical Clustering on Principal Components.





**FIGURE 4** Growth of *Fusarium graminearum* on soil per soil cluster. Black dots represent raw data. Means not sharing any letter are significantly different by the Tukey-test at the 5% level of significance. The boxplot represents the first quartile, median and third quartile.

cycle: soils are also considered suppressive if they limit the impact of the pathogen indirectly by increasing plant immunity and overall fitness (Gómez Expósito et al., 2017).

We expected soil fungistasis to vary depending on parameters influenced by both soil type and agricultural practices. Agricultural practices can impact soil properties differentially depending on soil type: for instance, the effect of tillage on soil structure is deeply linked to the clay content of soils (Roger-Estrade et al., 2014). To be able to distinguish these factors, we proposed a generalized linear mixed-effect model including the soil type, determined beforehand with clustering on perennial soil characteristics, crop management data as well as variable soil characteristics that can be affected by those practices (Table 4). Notably, organic matter promotes bacterial abundance, diversity and activity and thus increases the chances for soil suppressiveness (Perez et al., 2008). In our model, only the soil perennial characteristics, in the form of soil cluster, significantly influenced pathogen inhibition. Sandy soils tend to have lower organic matter content but surprisingly, the sandiest soils (cluster 1), that were also slightly more acidic soils, exhibited stronger suppressive properties (Figure 4). Furthermore, organic matter content was not significantly associated with fungistasis in our model (Table 4). We expected soils with lower pH to favour the development of this fungus, as fungi generally thrive in acidic pH (Rousk et al., 2009) but the opposite was observed in cluster 3. However, the difference in pH is relatively moderate and this level of acidity might not be sufficient to favour fungi over bacteria. In general, and particularly in our samples, soil pH and iron content are strongly negatively correlated (results not shown). In this same cluster, iron content was indeed significantly higher than average. In a study comparing one suppressive and

one non-suppressive soil, Kloepper et al. (1980) proposed that soil suppressiveness could be associated with the activity of *Pseudomonas* siderophores that limit the availability of iron. In this study, the authors showed that the addition of iron to the suppressive soil made it more conducive, as it was made available to the pathogen. However, in our case, the soils that have highest iron content (cluster 1) are also the most suppressive ones (Figure 4). This could be that iron is not the key component that explains fungistasis in this case.

Several studies have previously shown the influence of farming practices on the development of *F. graminearum* in the field, through their impact on the soil microbiome. The survival of *F. graminearum* on crop residues was investigated by Perez et al. (2008) on three distinct soils. They found green manure to increase the number of putative *Fusarium* antagonists. Sipilä et al. (2012) examined the impact of tillage on *F. culmorum* suppression on six agricultural fields, and found that microbial and fungal biomass were correlated with fungistasis, and that tillage reduced fungal biomass. De Corato et al. (2020) found that tomato-wheat rotation in a plot, compared with tomato monoculture, decreased the abundance of *Fusarium oxysporum* in the tomato rhizosphere and improved the health of the tomato plants cultivated on this soil. In a microcosm experiment with sandy soil, Bonanomi et al. (2017) found the frequent applications of organic amendments increased soil fungistasis towards four fungal species. Legrand et al. (2019) evaluated the effect of tillage and organic amendments on soil fungistasis in an assay including 31 wheat plots. They discovered that soils under minimum tillage practices exhibited stronger *F. graminearum* suppression than soils from plots under intensive tillage. Contrary to what was observed in previous

work, in our results, the cropping system and specific agricultural practices were not associated with suppression. Studies that focus on a particular management practice provide precious insight but often lack the complexity of field conditions. Conversely, even with a large number of samples, it remains difficult to unravel the origin of these mechanisms in diversified environments.

In our experimental design, the fungus was able to grow thanks to a plug of PDA medium deposited on the soil. Fungal growth was therefore not limited by nutrients, as would be confirmed by the controls with solely the piece of PDA medium. According to Schlatter et al. (2017), soils can exhibit either general or specific suppressive properties. In the case of general suppression, the main mechanism is likely competition with soil microorganisms. In such conditions, the development of a wide variety of soil-borne pathogens can be limited (Weyman-Kaczmarkowa & Pędziwilk, 2000). Specific suppressive properties on the other hand could originate in antagonism mediated by particular microbial species rather than the entire microbial community. Given these results, the suppression regarding *F. graminearum* in our samples could be due to a specific suppression mechanism at the saprophytic stage, involving antagonistic microorganisms rather than a general suppression mechanism explained by competition. Additionally, the mechanism of suppression could vary among the sampled soils, depending on soil types and physicochemical properties. As fungal growth was inhibited even when the fungus not in direct contact with the soil, this suppression is likely the result of the production of Volatile Organic Compounds (VOCs) by the microbial community. This phenomenon has been observed on pathogens such as *Phytophthora capsica*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, and *Pythium intermedium*, by isolated bacterial species as well as soil samples (de Boer et al., 2019; Syed-Ab-Rahman et al., 2019; Van Agtmaal et al., 2018). Notably, Van Agtmaal et al. (2018) found that inhibition of *F. oxysporum* by VOCs was increased by reduced till.

Our fungistasis test can be used to assess inhibition of other fungal pathogens. To go further, crop management practices should be studied retrospectively over longer time spans. This way, the cumulated years of specific land use that can affect the soil will be considered to explain specific soil properties at a given time.

## 5 | CONCLUSION

By taking into account soil characteristics and farming practices in the same study, we were able to identify the perennial soil characteristics as the main driver of soil fungistasis. Our work proposes a simple and efficient

method to evaluate soil capacity to limit the development of a pathogen, as well as an insight on the impact of both crop management practices and soil type on this multifactorial phenomenon. This project is the first to undertake the study of over a 100 field samples with this approach.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge the support received from the International Research Center on Sustainable AgroEcosystems (IRC-SAE, ISITE CAP20-25).

The authors would like to thank all the farmers that allowed sampling in their plots, Stéphane Sauvat for the collection of the samples, Julie Billom (VetAgro Sup) and Hannah Rey-Yang (Clermont Auvergne University) for proofreading the manuscript.

## CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

The authors declare no conflict of interest.

## DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to privacy or ethical restrictions.

## ORCID

Lena Simon  <https://orcid.org/0000-0003-2512-1178>

## REFERENCES

- Agreste (2010) Recensement agricole 2010. <http://agreste.agriculture.gouv.fr/recensement-agricole-2010/resultats-donnees-chiffres/> (accessed December 13th, 2019).
- Ahemad, M., & Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King saud University-science*, 26, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>
- Alletto, L., Coquet, Y., & Roger-Estrade, J. (2010). Two-dimensional spatial variation of soil physical properties in two tillage systems. *Soil Use and Management*, 26, 432–444. <https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2010.00295.x>
- Alouane, T., Rimbart, H., Bormann, J., González-Montiel, G. A., Loesgen, S., Schäfer, W., Freitag, M., Langin, T., & Bonhomme, L. (2021). Comparative genomics of eight *Fusarium graminearum* strains with contrasting aggressiveness reveals an expanded open pangenome and extended effector content signatures. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 6257. <https://doi.org/10.3390/ijms22126257>
- Banerjee, S., & van der Heijden, M. G. A. (2023). Soil microbiomes and one health. *Nature Reviews. Microbiology*, 21, 6–20. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00779-w>
- Boer, W. D., Gunnewiek, P. J. A. K., & Woldendorp, J. W. (1998). Suppression of hyphal growth of soil-borne fungi by dune soils from vigorous and declining stands of *Ammophila arenaria*. *The New Phytologist*, 138(1), 107–116.
- Bonanomi, G., Gaglione, S., Cesarano, G., Sarker, T. C., Pascale, M., Scala, F., & Zoina, A. (2017). Frequent applications of organic

- matter to agricultural soil increase fungistasis. *Pedosphere*, 27(1), 86–95. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(17\)60298-4](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(17)60298-4)
- Butault, J., Delame, N., Jacquet, F., & Zardet, G. (2011). L'utilisation des pesticides en France: état des lieux et perspectives de réduction.
- de Boer, W., Li, X., Meisner, A., & Garbeva, P. (2019). Pathogen suppression by microbial volatile organic compounds in soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 95(8), fiz105. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiz105>
- De Corato, U., Patrino, L., Avella, N., Salimbeni, R., Lacolla, G., Cucci, G., & Crecchio, C. (2020). Soil management under tomato-wheat rotation increases the suppressive response against *Fusarium* wilt and tomato shoot growth by changing the microbial composition and chemical parameters. *Applied Soil Ecology*, 154, 103601. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103601>
- Esmailzadeh-Salestani, K., Bahram, M., Ghanbari Moheb Seraj, R., Gohar, D., Tohidfar, M., Eremeev, V., Talgre, L., Khaleghdoust, B., Mirmajlessi, S. M., Luik, A., & Loit, E. (2021). Cropping systems with higher organic carbon promote soil microbial diversity. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 319, 107521. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107521>
- Gómez Expósito, R., de Bruijn, I., Postma, J., & Raaijmakers, J. M. (2017). Current insights into the role of rhizosphere bacteria in disease suppressive soils. *Frontiers in Microbiology*, 8, Article 2529. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02529>
- Goswami, R. S., & Kistler, H. C. (2004). Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops. *Molecular Plant Pathology*, 5, 515–525. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2004.00252.x>
- Husson, F., Lê, S., & Pagès, J. (2016). *Analyse de données avec R*. Presses Universitaires de Rennes.
- Jørgensen, L. N. (1999). Denmark's action plan for pesticides: Status and role of research. *Nordic Agricultural Research*, 81, 197–203.
- Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M., & Schroth, M. N. (1980). *Pseudomonas* siderophores: A mechanism explaining disease-suppressive soils. *Current Microbiology*, 4, 317–320. <https://doi.org/10.1007/BF02602840>
- Legrand, F., Chen, W., Cobo-Díaz, J. F., Picot, A., & Floch, G. L. (2019). Co-occurrence analysis reveal that biotic and abiotic factors influence soil fungistasis against *Fusarium graminearum*. *FEMS Microbiology Ecology*, 95(5), fiz056. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiz056>
- Météo France (2019) Station météorologique de Clermont-Ferrand. [https://donneespubliques.meteofrance.fr/?fond=contenu&id\\_contenu=37](https://donneespubliques.meteofrance.fr/?fond=contenu&id_contenu=37) (accessed in 2019).
- Météo France (2022) Station météorologique de Clermont-Ferrand [https://donneespubliques.meteofrance.fr/?fond=contenu&id\\_contenu=37](https://donneespubliques.meteofrance.fr/?fond=contenu&id_contenu=37) (accessed in 2022).
- Mhete, M., Eze, P. N., Rahube, T. O., & Akinyemi, F. O. (2020). Soil properties influence bacterial abundance and diversity under different land-use regimes in semi-arid environments. *Scientific African*, 7, e00246. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00246>
- Nowak, B., & Marliac, G. (2020). Optimization of carbon stock models to local conditions using farmers' soil tests: A case study with AMGv2 for a cereal plain in Central France. *Soil Use and Management*, 36(4), 633–645. <https://doi.org/10.1111/sum.12608>
- Palojärvi, A., Kellok, M., Parikka, P., Jauhiainen, L., & Alakukku, L. (2020). Tillage system and crop sequence affect soil disease suppressiveness and carbon status in boreal climate. *Frontiers in Microbiology*, 11, 534786. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.534786>
- Perez, C., Dill-Macky, R., & Kinkel, L. L. (2008). Management of soil microbial communities to enhance populations of *Fusarium graminearum*-antagonists in soil. *Plant and Soil*, 302, 53–69. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9455-6>
- Roger-Estrade, J. J., Labreuche, J., & Boizard, H. H. (2014). *Importance du travail du sol: Typologie des modes de mise en œuvre et effet sur le rendement des cultures*. Savoir Faire (Quae).
- Rousk, J., Brookes, P. C., & Bååth, E. (2009). Contrasting soil pH effects on fungal and bacterial growth suggest functional redundancy in carbon mineralization. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(6), 1589–1596. <https://doi.org/10.1128/AEM.02775-08>
- Scher, F. M., & Baker, R. (1980). Mechanism of biological control in a *Fusarium*-suppressive soil. *Phytopathology*, 70(5), 412–417. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-70-412>
- Schlatter, D., Kinkel, L., Thomashow, L., Weller, D., & Paulitz, T. (2017). Disease suppressive soils: New insights from the soil microbiome. *Phytopathology*, 107(11), 1284–1297. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-17-0111-RVW>
- Schmale, D. G., III, Bergstrom, G. C., & Fusarium head blight [WWW document]. (2003). Fusarium Head Blight. Retrieved 17 May 2022 in <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/fungalasco/pdlessons/Pages/Fusarium.aspx>
- Sipilä, T. P., Yrjälä, K., Alakukku, L., & Palojärvi, A. (2012). Cross-site soil microbial communities under tillage regimes: Fungistasis and microbial biomarkers. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(23), 8191–8201. <https://doi.org/10.1128/AEM.02005-12>
- Syed-Ab-Rahman, S. F., Carvalhais, L. C., Chua, E. T., Chung, F. Y., Moyle, P. M., Eltanahy, E. G., & Schenk, P. M. (2019). Soil bacterial diffusible and volatile organic compounds inhibit *Phytophthora capsici* and promote plant growth. *The Science of the total environment*, 692, 267–280. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.061>
- Van Agtmaal, M., Straathof, A. L., Termorshuizen, A., Lievens, B., Hoffland, E., & De Boer, W. (2018). Volatile-mediated suppression of plant pathogens is related to soil properties and microbial community composition. *Soil Biology and Biochemistry*, 117, 164–174. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.11.015>
- Viaud, V., Santillan-Carvantes, P., Akkal-Corfini, N., Le Guillou, C., Prévost-Bouré, N. C., Ranjard, L., & Menasseri-Aubry, S. (2018). Landscape-scale analysis of cropping system effects on soil quality in a context of crop-livestock farming. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 265, 166–177. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.06.018>
- Welbaum, G. E., Sturz, A. V., Dong, Z., & Nowak, J. (2004). Managing soil microorganisms to improve productivity of agroecosystems. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 23(2), 175–193. <https://doi.org/10.1080/07352680490433295>
- Weyman-Kaczmarkowa, W., & Pędziwilk, Z. (2000). The development of fungi as affected by pH and type of soil, in relation to the occurrence of bacteria and soil fungistatic activity.

*Microbiological Research*, 155(2), 107–112. [https://doi.org/10.1016/S0944-5013\(00\)80045-2](https://doi.org/10.1016/S0944-5013(00)80045-2)

World Reference Base | FAO SOILS PORTAL | Food and Agriculture Organization of the United Nations [WWW Document], (n.d) Retrieved April 28, 2023. <https://www.fao.org/soils-portal/data-hub/soil-classification/world-reference-base/en/>

Xue, P.-P., Carrillo, Y., Pino, V., Minasny, B., & McBratney, A. B. (2018). Soil properties drive microbial community structure in a large scale transect in South Eastern Australia. *Scientific Reports*, 8(1), 11725. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30005-8>

**How to cite this article:** Simon, L., Langin, T., Nowak, B., & Marliac, G. (2024). Perennial soil characteristics are the main factor driving in vitro inhibition of the wheat fungal pathogen *Fusarium graminearum* in a French case study. *Soil Use and Management*, 40, e12998. <https://doi.org/10.1111/sum.12998>



## Récapitulatif n°2

L'études de l'impact des caractéristiques des sols agricoles, à travers différents systèmes de culture, nous a permis de mettre en évidence l'impact des caractéristiques pérennes du sol sur un service écosystémique : la fongistase. Contrairement à ce qui a été observé dans la littérature, les sols les plus sableux et acides avaient aussi tendance à être suppressifs. Pour mieux comprendre le mécanisme de à l'œuvre, nous rechercherons dans le chapitre suivant les déterminants microbiens de la fongistase dans le cas de *Fusarium graminearum*.

## Chapitre 3 : Origine microbienne des propriétés fongistatiques

### Introduction

Dans le chapitre précédent, nous avons observé une influence des caractéristiques pérennes sur le potentiel fongistatique des sols envers *Fusarium graminearum*. Or, il est admis que la fongistase est un phénomène d'origine microbienne (Garbeva et al., 2011). D'autre part, comme nous l'avons décrit en introduction il est souvent observé que les caractéristiques pérennes, comme le pH et la texture du sol, jouent un rôle majeur dans la composition et l'activité des communautés microbiennes présentes dans le sol (Constancias et al., 2015; Karimi et al., 2018b; Kuramae et al., 2012; Lauber et al., 2008).

*Fusarium* spp. étant un saprophyte efficace, pouvant se maintenir dans les sols entre les cultures (Stone et al., 2004), il y a un intérêt fort à comprendre ce qui stimule son inhibition directe dans le sol de réserve. Nous rechercherons dans ce chapitre la relation entre la communauté microbienne des sols et leur potentiel fongistatique. Pour cela nous utiliserons les données acquises sur la communauté bactérienne du sol de réserve en relation avec les résultats de test de fongistase, les caractéristiques physico-chimiques du sol et les pratiques agricoles.

A travers l'analyse de données metabarcoding, il a été possible de comparer la diversité et la composition des communautés entre sols suppressifs (résistants) et permissibles (sensibles) pour mieux comprendre le mécanisme de suppression à l'œuvre dans le cas de *F. graminearum*.

## Matériel et méthodes

### Echantillonnage et caractérisation des sols

Le terrain d'étude, la méthode d'échantillonnage et la caractérisation physico-chimique et agronomique (système de production) des sols sont décrits dans la section matériel et méthodes du chapitre 2. En résumé, des échantillons de sol de réserve ont été collectés en mai 2021 dans 103 parcelles de blé situé dans la plaine de Limagne (Puy-de-Dôme, France). Pour chaque parcelle cinq points de prélèvement de 15 cm de profondeur espacés d'environ deux mètres ont été mélangés. Le pH, l'azote (N), le phosphore (P), le potassium (K), les carbonates (C), la capacité d'échange cationique (CEC), le fer (Fe), le cuivre (Cu), et la texture des sols (fractions argile, limon et sable) a été mesurés par un laboratoire d'analyse agronomiques (SADEF). Les sols ont ensuite été classés dans 5 clusters (chapitre 2) en fonction de leurs caractéristiques pérennes (CEC, Fe, C, pH, argile, sable).

### Description des pratiques agricoles

Dans ce chapitre, les pratiques agricoles cinq ans avant et pendant l'année d'échantillonnage, obtenues par les enquêtes auprès des agriculteurs, ont été utilisées. Les variables incluses dans les analyses des pratiques agricoles comprenaient le nombre de labours du sol et le nombre cultures différentes dans la rotation. En plus de ces données, l'indice de fréquence de traitement (IFT) pour l'année des prélèvements, dont le calcul est décrit dans le chapitre 2, a été utilisé.

### Test de fongistase

Le protocole des tests de fongistase est décrit dans la section matériel et méthodes du chapitre 2. Dans ce chapitre-ci les données pour deux souches de *F. graminearum* sont exploitées : une souche plus agressive (MDC\_Fg1) et l'autre moins (MDC\_FgU1) (Fabre et al., 2019). Ces deux souches ont été inoculées sur un cercle de milieu PDA déposé sur du sol dans une boîte de Petri, puis leur surface croissance a été mesurée après six jours d'incubation, par traitement d'image. Pour chaque souche et chacun des 103 sols, trois répliques ont été réalisés. Pour les deux souches, trois témoins ont également été réalisés, en déposant la gélose dans une boîte de Petri vide.

Pour chaque souche, un indice de fongistase (IF) de 0 à 1 a été calculé en fonction de la croissance des témoins selon la formule suivante :

$$IF(souche) = \frac{\text{Croissance témoin} - \text{Croissance échantillon}}{\text{Croissance témoin}}$$

Equation 1 : Formule de calcul de l'indice de fongistase (IF). Deux indices par sol ont été calculés avec la moyenne des trois réplicas et la moyenne des témoins pour chacune des deux souches (MDC\_Fg1 et MDC\_FgU1).

Un indice de fongistase combiné (IFC) correspondant à la moyenne des deux indices a ensuite été calculé pour chaque sol. Les catégories de fongistase (« Sensible » et « Résistant ») ont été déterminées par les ruptures de la distribution de l'IFC, et correspondent aux premiers et derniers 13% de l'IFC des échantillons, respectivement. Les autres échantillons ont un pouvoir fongistatique « indéterminé » (Fig. 9).

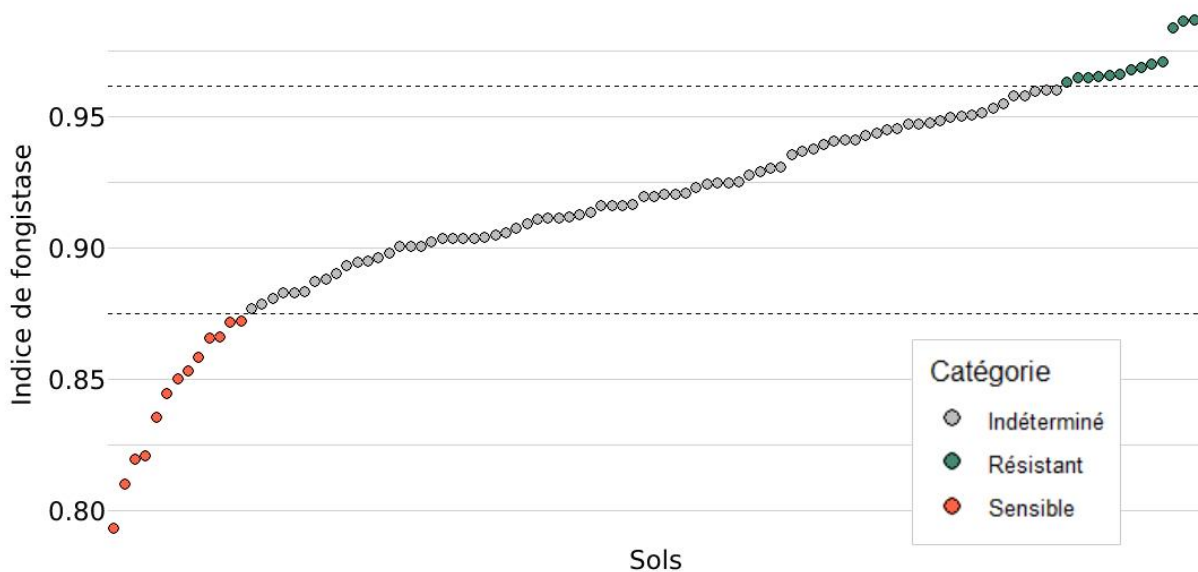


Figure 9 : Répartition des sols en groupes « sensibles », « indéterminé » et « résistant » en fonction de leur indice de fongistase combiné (IFC). Les séparations ont été choisies en fonction de rupture sur la distribution de l'IFC des 103 sols. Ainsi, 13 sols ont été classés dans la catégorie « sensible », 77 dans la catégorie « indéterminé » et 13 dans la catégorie « résistant ».

## Amplification et séquençage des ADN bactériens

L'ADN a été extrait à l'aide du kit FastDNA™ SPIN pour sol (MP Biomedicals), en suivant les instructions du fabricant. Pour chaque sol, 200 mg ont été broyés par agitation dans des tubes contenant des billes et un produit détergent. Après ajout d'une solution pour précipiter les protéines et centrifugation, le surnageant a été mélangé à une solution de silice pour lier l'ADN. La matrice de silice a ensuite été lavée à l'eau pure sans DNase.

La pureté et la concentration des extraits ont été mesurées avec un spectromètre NanoDrop™ (Ozyme) et un fluoromètre Qubit™ (Thermo Fisher Scientific). Lorsque nécessaire, les extraits ont été purifiés par précipitation à l'éthanol : 3 volumes d'éthanol à 96 % à -20°C et 0,1 volume d'acétate de sodium ont été ajoutés aux extraits d'ADN qui ont ensuite été placés à -20°C pour une nuit. Après centrifugation, le surnageant a été retiré et le culot a été lavé deux fois avec de l'éthanol à 75 % à -20°C en suivant le même processus. Le culot final a été remis en suspension dans de l'eau pure sans DNase.

Les ADN ribosomiques 16S (régions V1-V9) ont été amplifiés selon la procédure préconisée par PacBio pour le séquençage d'échantillons multiplexés. Les extraits ont été dilués pour atteindre environ 0,2 ng/μL d'ADN dans 10 mM de Tris-HCl à pH 8, et 5 μL ont été utilisés pour l'amplification par PCR. Chaque échantillon a ensuite été mélangé avec 1,5 μL d'eau pure et 12,5 μL de 2X KAPA HiFi HotStart ReadyMix (Merck). Dans ce protocole, il y a huit « codes-barres » nucléotidiques différents intégrés aux amorces sens (5'- AGRGTTYGATYMTGGCTCAG -3') et 24 pour les amorces anti-sens (5'- RGYTACCTTGTTACGACTT -3') afin que chaque échantillon dans deux plaques de 96 puits puisse avoir une combinaison différente de codes-barres en vue du démultiplexage. Les amorces ont été diluées dans du Tris-HCl pour atteindre 2,5 μM, et 3 μL de chaque amorce ont été ajoutés dans chaque puits. Les plaques ont été placées dans un thermocycleur à 95°C pendant trois minutes, puis pour 23 cycles à 95°C pendant 30 secondes, 57°C pendant 30 secondes et 72°C pendant une minute. Les produits d'amplification ont ensuite été stockés à -20°C avant séquençage. La taille attendue de l'amplicon était d'environ 1 500 pb. Les librairies ont été produites, et séquencées dans un séquenceur PacBio Sequel II, par la plateforme Gentyane (INRAE, Clermont-Ferrand, France).

## Analyse des données

Les analyses de données ont été effectuées sur R (version 4.2.2). Après démultiplexage et suppression des codes-barres, les amplicons ont été traités avec {DADA2} (Callahan et al., 2019). Les amorces ont été retirées et les amplicons ont été filtrés pour ne conserver que les fragments compris entre 1 000 et 1 600 paires de bases. Les séquences ont été dérépliquées et les erreurs ont été corrigées grâce à la fonction « learnerrors() » du package. Les séquences ont ensuite été débruitées et affiliées à une taxonomie grâce à la base de données Silva (Quast et al., 2013). Les données résultantes ont été traitées avec le package {phyloseq}. Les séquences ont été filtrées pour conserver uniquement les séquences bactériennes et exclure les mitochondries, les chloroplastes et les archées. Pour certaines analyses, les données ont été raréfiées en prenant l'échantillon à la plus faible profondeur de séquençage comme référence.

Les Unités Taxonomiques Opérationnelles (OTUs) partagées ont été représentées à l'aide du package {MicEco} et extraites avec {metagMisc}. Le package {phyloseq} a servi à l'extraction des indices d'alpha-diversité incluant l'Indice de Shannon (SI) et la diversité observée (OD) ainsi qu'à l'analyse des coordonnées principales (PCoA) avec la distance Bray-Curtis sur les données raréfiées. Les analyses permanova ont été réalisées avec le package {vegan} avec 999 permutations. Les genres indicateurs, c'est-à-dire surreprésentés dans certains groupes, ont été déterminées à l'aide du package {Indicspecies}. La matrice de corrélation des variables physico-chimiques, des indices de fongistase et des phyla majoritaires a été réalisée avec le package {corrplot} sur les données raréfiées. Les différences de diversité et d'abondance des phyla entre les groupes ont été testées par une anova, suivie d'un test post-hoc (Tukey). Les corrélations ont été évaluées avec la méthode de Pearson.

## Sélection des genres d'intérêt

Les genres dont l'abondance a été étudiée pour expliquer la fongistase ont été sélectionnés dans la littérature pour leur effet direct (validé *in vitro*) ou indirect (validé *in planta*) sur *Fusarium graminearum*. Ces microorganismes étaient soit isolés du sol, soit de la rhizosphère du blé ou d'autres cultures. *Pseudomonas* (Chen 2018), *Lysobacter* (Kim 2019), *Staphylococcus*, *Bacillus* (Besset-Manzoni 2019), *Burkholderia*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *Paenibacillus*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Dyella*, et *Mesorhizobium* (Lisboa 2015), et *Stenotrophomonas* (Dal Bello, 2002) ont été validés *in vitro*. *Microbacterium*, *Arthrobacter*, *Variovorax*, *Chryseobacterium* (Besset-Manzoni 2019), et *Streptomyces* (Colombo 2019) ont été validés *in planta*.

## Résultats

### Caractéristiques du microbiome du sol

En tout, 1 059 455 amplicons ont été séquencés pour les 103 sols étudiés. Les profondeurs de séquençages étaient très variables entre échantillons, allant de 449 amplicons à 77 550. Après l'assignation, 24 150 OTUs différentes appartenant au domaine des bactéries ont pu être identifiées. En moyenne, chaque échantillon comportait 381 OTUs différentes.

Les dix phyla les plus représentés dans les communautés naturelles du sol étaient, dans l'ordre, les Protéobactéries (un peu moins de 40% de l'abondance totale), suivi des Acidobactéries, des Bacteroidota, des Actinobactéries (15% chacun environ), puis des Gemmatimonadota, des Verrumicrobiota, des Planctomycetota, des Myxococcota, des Firmicutes et des Chloroflexi (moins de 10% chacun). Les dix genres bactériens les plus abondants étaient *RB41*, *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Ralstonia*, *Lysobacter*, *Gaiella*, *Massilia*, *Rhizobacter*, *Variovorax* et *Gemmatimonas*.

### Test de fongistase

Comme décrit dans le chapitre précédent, les résultats du test de fongistase ont révélé une grande variabilité entre les différents sols. En moyenne, la souche MDC\_Fg1 présentait une croissance plus importante (9% de surface de sol recouverte en moyenne) que la souche MDC\_FgU1 (4.3%) alors que les témoins sans sol présentaient pour MDC\_FgU1 des surfaces de croissance supérieure (84%) à celles pour MDC\_Fg1 (79%). Les indices de fongistase pour les deux souches allaient ainsi de 80% à presque 100% d'inhibition de croissance par rapport aux témoins sans sols (Fig. 10). Le développement des deux souches sur un même sol étaient significativement corrélés ( $p < 0.001$ ,  $r^2 = 0.34$ ), signifiant qu'un sol suppressif pour une souche avait tendance à être suppressif pour l'autre souche aussi.

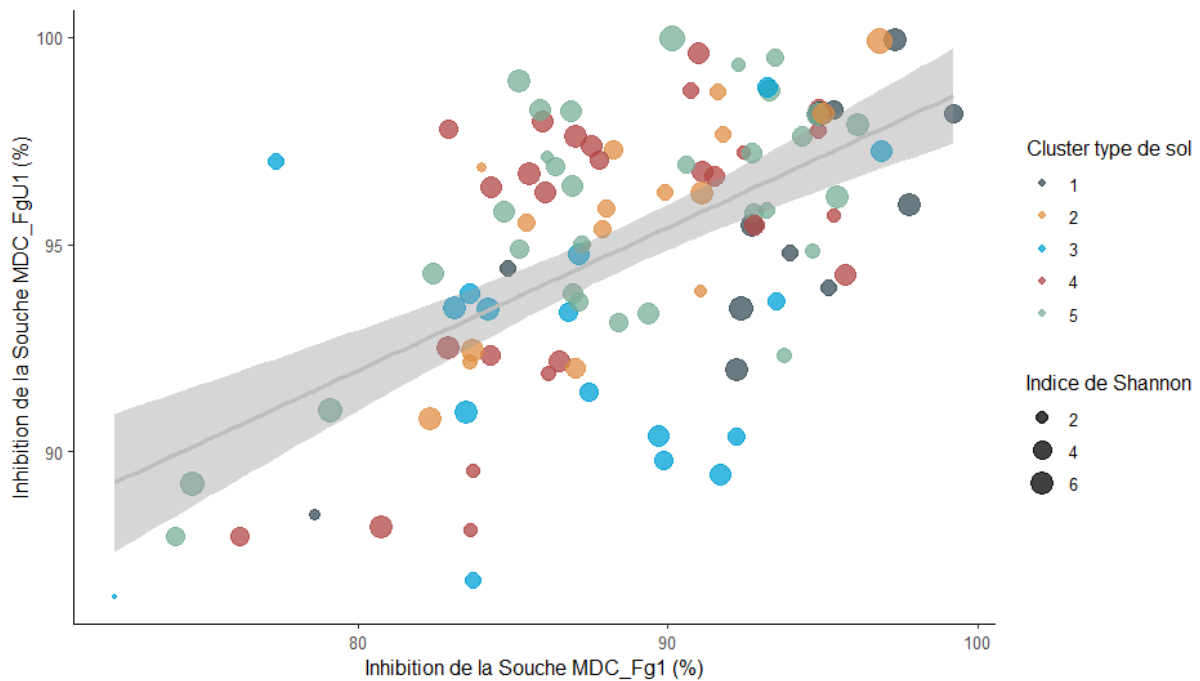


Figure 10 : Corrélation entre l'inhibition des deux souches de *F. graminearum* lors du test de fongistase sur les 103 sols prélevés. Les pourcentages d'inhibition sont calculés par rapport à la croissance du témoin. Les couleurs représentent les clusters formés sur les caractéristiques pérennes du sol (chapitre 2), c'est-à-dire pH, CEC, teneur en sables, argile, carbonates, fer et cuivre. La taille représente l'indice de Shannon (alpha-diversité) de chaque sol.

## Déterminants microbiens de la fongistase

### 2.1.1. Composition

L'analyse de corrélation des variables (envfit) a montré que l'indice de fongistase pour MDC\_FgU1 était significativement corrélé à la composition de la communauté microbienne ( $p < 0.05$ ) mais pas MDC\_Fg1 ni l'indice combiné (Fig. 11). Les communautés microbiennes issues des sols résistants présentaient des bactéries appartenant à 28 phyla différents, les communautés microbiennes issues des sols indéterminés et sensibles n'en représentaient quant à elles que 25 et 23, respectivement. Les phyla Spirochaetota, Halanaerobiaeota et Calditrochota n'étaient pas représentés dans les sols indéterminés. Les phyla absents des sols sensibles étaient les Cyanobacteria, les Spirochaetota, les Deinococcota, les Hydrogenedentes et les Calditrochota. Ces différents phyla représentaient moins de 1% de l'abondance dans les sols résistants.



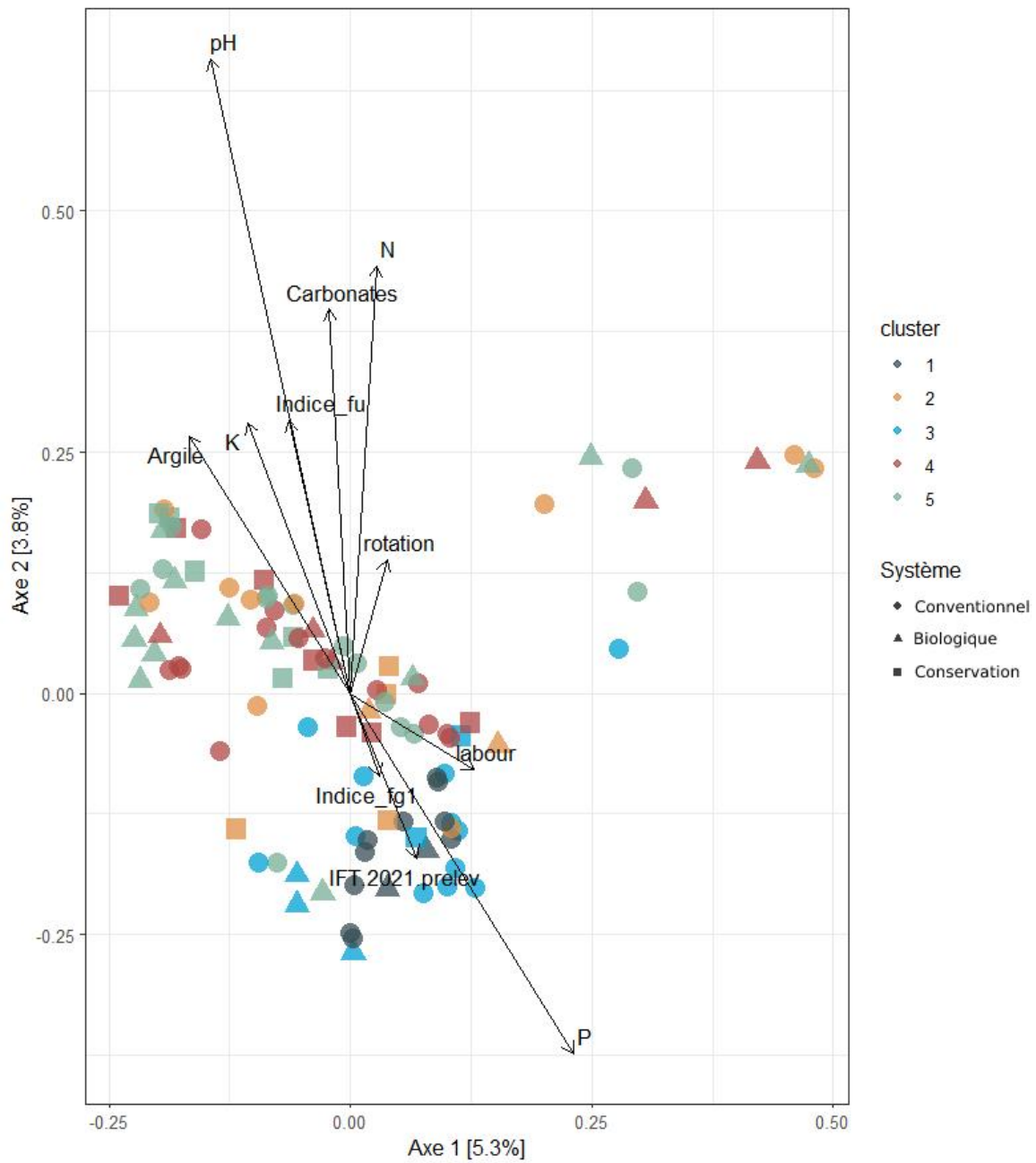


Figure 11 : PCoA (distance de Bray-Curtis) des échantillons de sols. La couleur représente les clusters formés sur les caractéristiques pérennes du sol (pH, CEC, Fe, Carbonates, Argile, Sable) et la forme représente le système de production. Les flèches indiquent une valeur plus élevée des variables concernées dans cette direction, et leur longueur l'intensité de cette corrélation. Indice\_fg1 = IF de la souche MDC\_Fg1 ; Indice\_fu = IF de la souche MDC\_FgU1.

### 2.1.2. Diversité

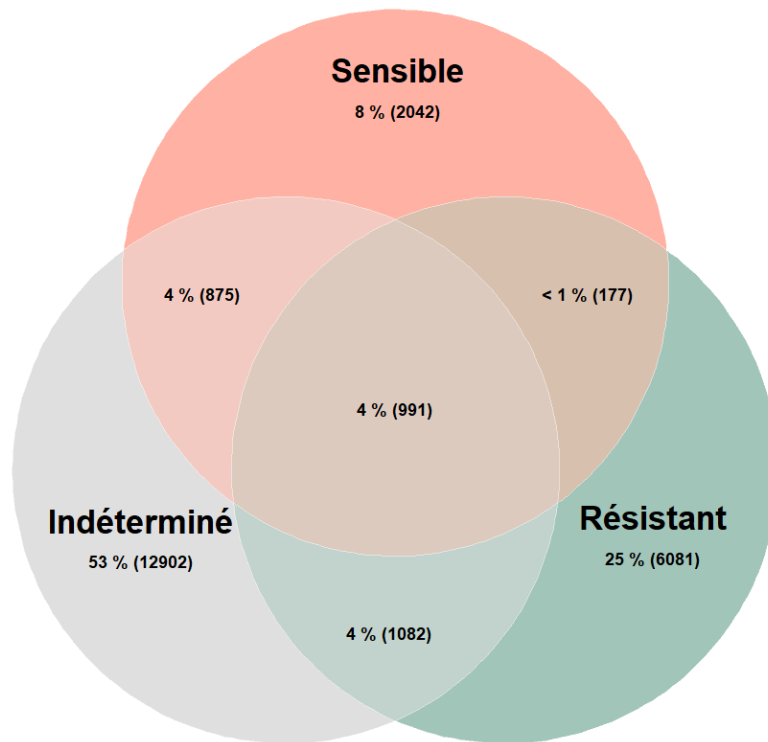
Les 13 sols les plus résistants comportaient deux fois plus d'OTUs différentes (8331) que les 13 plus sensibles (4085) (Tab. 6). L'alpha diversité était significativement plus élevée dans les sols résistants (SI : 5.4) que dans les sols indéterminés (4.5) et sensibles (4.2) ( $p = 0.04$ ) (Fig. 12B). Le groupe résistant présentait la plus grande diversité au niveau du nombre de phyla et de classes (Tab. 6).

Le groupe « résistant » présentait plus d'OTUs spécifiques (25%) que le groupe « sensible » (8%). Les groupes « sensible » et « résistant » partageaient moins d'OTUs entre eux (<1%) que les groupes « sensible » et « indéterminé » ou « résistant » et « indéterminé » (Fig. 12A) Seulement 4% d'OTUs étaient représentées dans les trois groupes, mais ces OTUs représentaient 41%, 35% et 50% de l'abondance totale dans les groupes indéterminé, résistant et sensible, respectivement.

Tableau 6 : Diversité observée par groupe de fongistase des sols (colonnes résistant, indéterminé, sensible) et dans tous les échantillons cumulés (total) par rang taxonomique.

|          | <b>Résistant</b> | <b>Indéterminé</b> | <b>Sensible</b> | <b>Total</b> |
|----------|------------------|--------------------|-----------------|--------------|
| Phyla    | 28               | 25                 | 23              | 28           |
| Classes  | 49               | 46                 | 39              | 52           |
| Ordres   | 118              | 122                | 96              | 135          |
| Familles | 220              | 220                | 174             | 251          |
| Genres   | 393              | 423                | 293             | 507          |
| OTUs     | 8 331            | 15 850             | 4 085           | 24 150       |

A



B

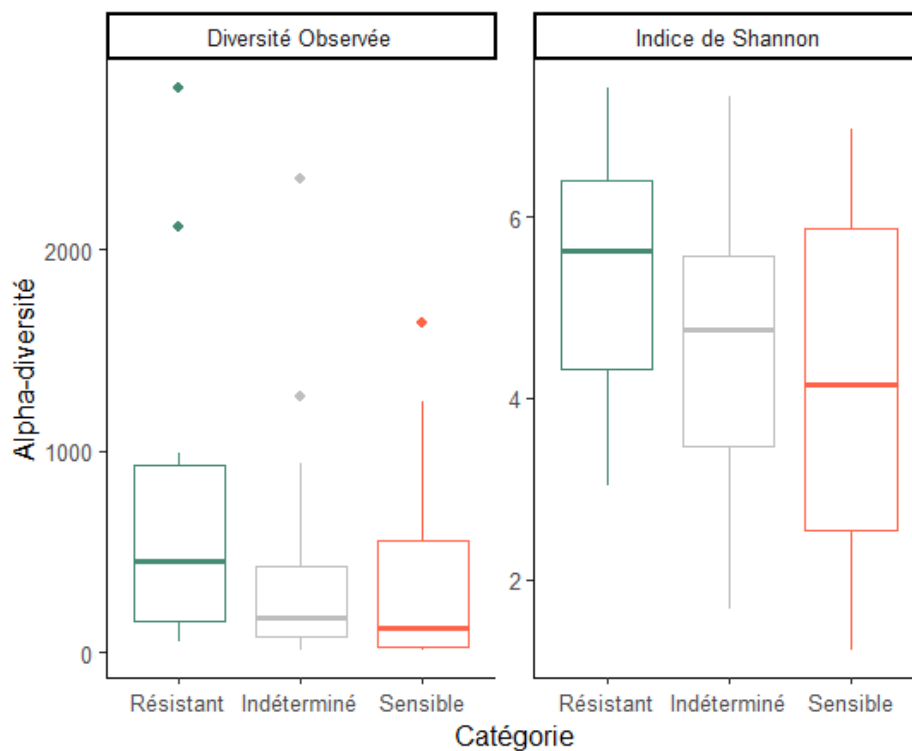


Figure 12 : Diversité observée dans les trois catégories de fongistase. (A) OTUs présents et partagées entre les groupes sensible (13 sols), indéterminé (77 sols) et résistant (13 sols). Les nombres entre parenthèses indiquent le nombre d'OTU et le pourcentage correspond soit à la proportion d'OTU partagées (intersections), soit aux OTUs spécifiques. (B) Alpha-diversité dans les trois catégories de fongistase ; diversité observée (nombres d'OTUs) à gauche et Indice de Shannon à droite.

### 2.1.3. Taxons d'intérêt

Le lien entre abondance des genres d'intérêt (*Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *Lysobacter*, *Paenibacillus*, *Burkholderia*, *Chryseobacterium*, *Dyella*, *Staphylococcus*, *Microbacterium*, *Stenotrophomonas*, *Rhizobium* et *Mesorhizobium*) et l'indice de fongistase a été testé. Mis à part *Burkholderia* ( $p < 0.001$ ,  $r^2 = 0.1$ ), aucune variation d'abondance n'était significativement corrélée à un indice plus haut ou bas (Fig. 13). L'analyse des taxons indicateurs (indicspecies) a montré que 22 genres et 7 espèces, dont *Burkholderia*, était significativement surreprésentés dans le groupe « résistant ». Seulement trois genres étaient spécifiques du groupe « sensible », et sept étaient moins représentés dans le groupe « indéterminé » (interprétés dans l'analyse comme indicateurs des groupes « sensible » et « résistant » combinés) (Tab. 7).

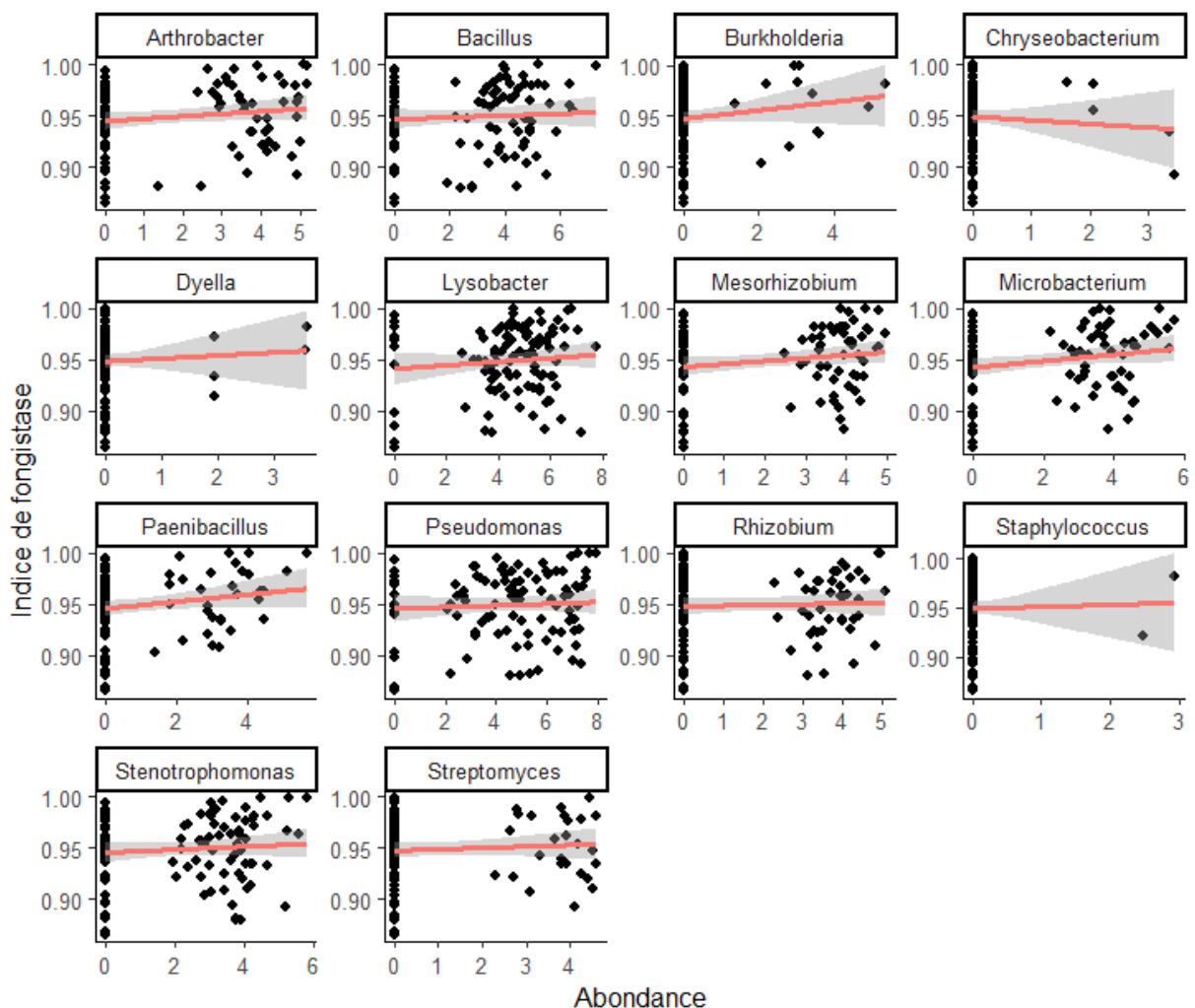


Figure 13 : Corrélation entre indice de fongistase et genres d'intérêt (identifiés *in vitro* comme antagonistes de *F. graminearum* dans la littérature). L'indice de fongistase représente l'inhibition moyenne pour les deux souches par rapport aux témoins (IFC). L'abondance est l'abondance absolue transformée (log). Chaque point représente un échantillon de sol.

Tableau 7 : Genres et espèces indicateurs de chaque catégorie de fongistase. Les différences ont été calculées sur l'abondance relative grâce au package {indicspecies}. Les astérisques indiquent la p-value (codes : 0 = \*\*\*, 0.001 = \*\*, 0.01 = \*).

| Groupe Résistant   | Groupe Sensible  | Groupe Resistant + Sensible  |
|--|--|--|
| <i>Candidatus Solibacter</i> spp. **<br><i>Burkholderia</i> spp. ***<br><i>Rhodanobacter</i> spp. **<br><i>P3OB-42</i> spp. **<br><i>Jatrophihabitans</i> spp. *<br><i>Nakamurella</i> spp. **<br><i>Methylorosula</i> spp. ***<br><i>Roseiarcus</i> spp. **<br><i>Terrabacterspp.</i> **<br><i>Oryzihumus</i> spp. **<br><i>Dyella</i> spp. **<br><i>Occallatibacter</i> spp. *<br><i>Granulicella</i> spp. *<br><i>Ellin516</i> spp. *<br><i>Kitasatospora</i> spp. *<br><i>Rhodopila</i> spp. *<br><i>Tumebacillus</i> spp. *<br><i>Acidiphilium</i> spp. *<br><i>Acidipila-Silvibacterium</i> spp. *<br><i>Kineosporia</i> spp. *<br><i>Paenarthrobacter</i> spp. *<br><i>Edaphobacter</i> spp. *<br><i>Sphingomonas echinoides</i> **<br><i>Bacillus longiquaesitum</i> *<br><i>Oryzihumus terrae</i> **<br><i>Adhaeribacter terreus</i> *<br><i>Paenibacillus alginolyticus</i> *<br><i>Caulobacter fusiformis</i> *<br><i>Paenibacillus castaneae</i> * | <i>Nitrobacter</i> spp. *<br><i>Kribbella</i> spp. *<br><i>Cohnella</i> spp. * | <i>Caenimonas</i> spp. *<br><i>Pseudolabrys</i> spp. **<br><i>Parafilimonas</i> spp. *<br><i>Luedemannella</i> spp. *<br><i>YC-ZSS-LKJ147</i> spp. *<br><i>Bauldia</i> spp. *<br><i>Candidatus Ovatusbacter</i> spp. * |

## Influence des variables environnementales

La PCoA (distance de Bray-Curtis) des 103 sols analysés explique 5.3% de la variance sur l'axe 1 et 3.9% sur l'axe 2. L'analyse de corrélation des variables associées aux échantillons (envfit) a montré que toutes les caractéristiques physico-chimiques du sol (carbonates, argile, pH, N, P, K) étaient significativement corrélées à la composition de la communauté microbienne ( $p < 0.05$ ). La même analyse a montré que les pratiques individuelles (rotation, labour, IFT) n'étaient pas corrélées à la composition de la communauté microbienne (Fig. 11). En revanche, la permanova a indiqué que les systèmes de culture (conventionnel, conservation ou agriculture biologique) étaient significativement ( $p < 0.001$ ) différents en termes de composition microbienne.

Concernant les caractéristiques pérennes du sol, l'alpha-diversité moyenne était la plus élevée dans le cluster 1 (indice de Shannon : 4.9), suivi des clusters 5 (4.7), 4 (4.6), 3 (4.6) et 2 (4.3) bien que ces différences ne soient pas significatives. Par ailleurs, une analyse permanova indique que les cinq clusters avaient des centroïdes significativement différents ( $p < 0.001$ ).

Les corrélations entre l'abondance des phyla majoritaires (>1% de l'abondance totale), les variables physico-chimiques du sol et les indices de fongistase pour chaque souche sont représentés dans la Figure 14. Aucun des phyla ni des genres majoritaires n'était significativement corrélé avec les indices de fongistase. L'analyse a mis en évidence les corrélations entre variables physico-chimiques du sol, telles que la corrélation négative entre pH et teneur en fer, ou entre Argile et CEC. L'abondance de certains phyla comme les Verrumicrobiota, les Actinobacteriota et les Firmicutes était corrélée à plusieurs variables physico-chimiques. Il en ressort également que les abondances de certains phyla étaient corrélées. Par exemple, l'abondance en Proteobacteria était négativement corrélée avec celles en Acidobacteriota, Bacteroidota et Myxococcota.

L'abondance relative en Firmicutes était plus élevée dans le cluster 1 que dans les 4 autres clusters (Fig. 15) ( $p < 0.001$ ). L'analyse de taxons indicateurs au niveau des genres a montré que 24 genres étaient représentatifs du cluster 1, dont *Burkholderia*, contre un pour les clusters 2 et 4, deux pour le cluster 3, et aucun pour le cluster 5 (Tab. 10 – Annexes).

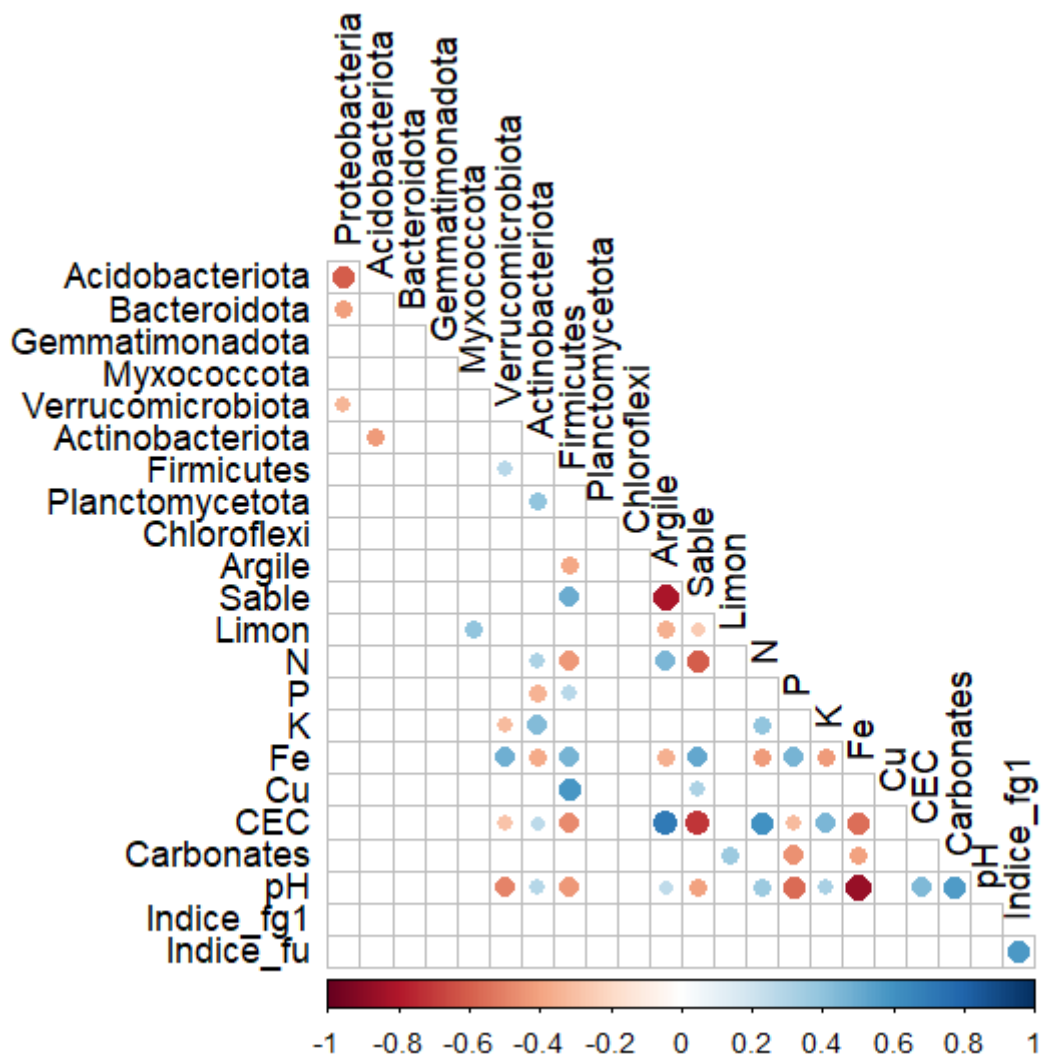


Figure 14 : Matrice des corrélations (Pearson) entre les phyla majoritaires (>1% de l'abondance totale), les caractéristiques physico-chimiques du sol et la croissance des souches. Les couleurs représentent le sens de la corrélation (rouge : négative, bleu : positive). Une couleur plus sombre et un cercle plus grand indiquent un coefficient de corrélation plus élevé. Seule les corrélations significatives ( $p > 0.01$ ) sont représentées. Indice\_fg1 = IF de la souche MDC\_Fg1 ; Indice\_fu = IF de la souche MDC\_FgU1.

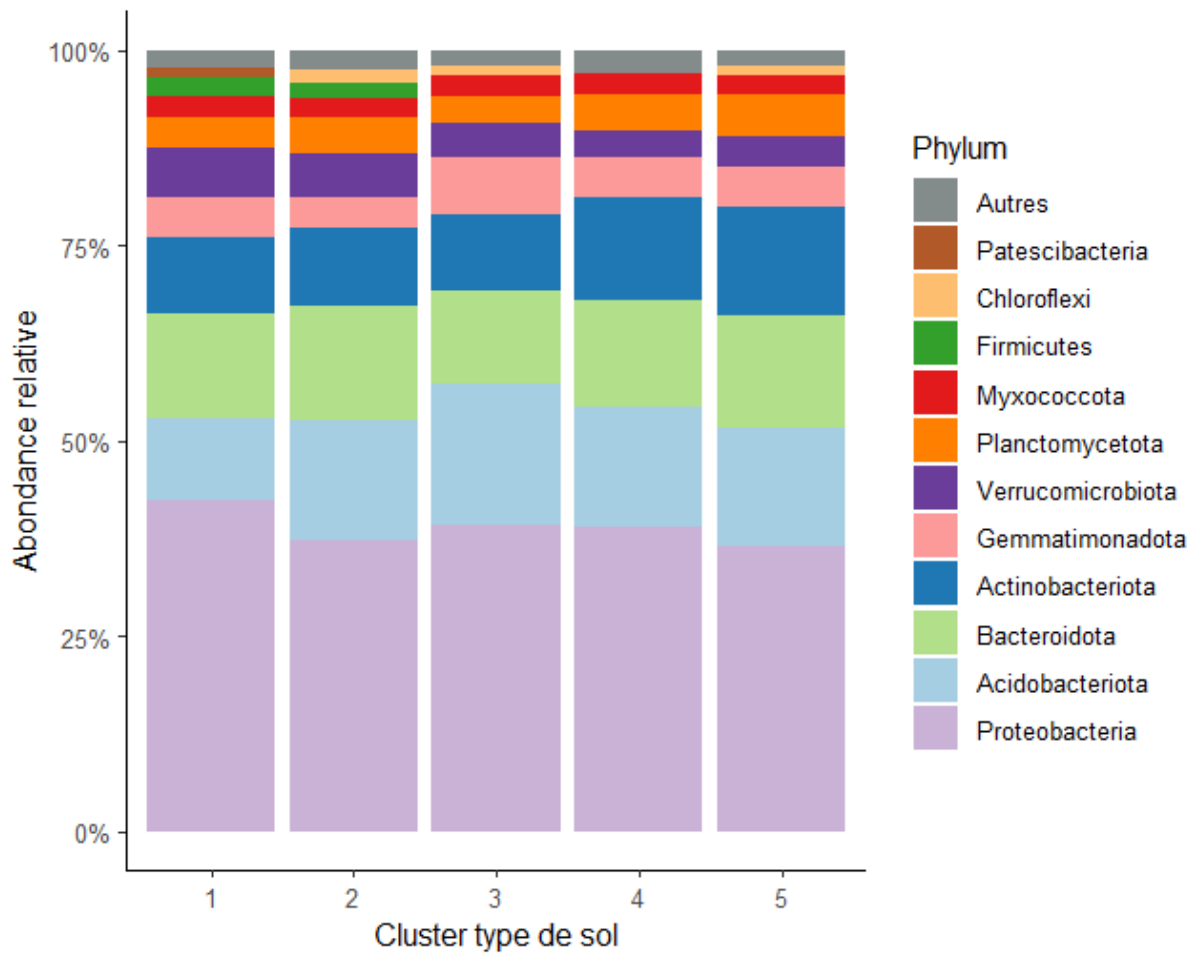


Figure 15 : Proportions en phyla majoritaires (>1%) des sols selon 5 clusters décrivant les caractéristiques pérennes du sol (pH, CEC, Fe, Carbonates, Argile, Sable).



## Discussion

Les principaux taxons bactériens identifiés sont ceux retrouvés communément dans les sols, malgré quelques variations selon les zones géographiques (Karimi et al., 2018b). Nos résultats ont montré que les caractéristiques physico-chimiques, et dans une moindre mesure, le système de production, influençaient la composition de la communauté bactérienne détectée dans les sols. Ces résultats sont concordant avec les différents filtres qui régissent l'assemblage des communautés microbiennes du sol décrit dans la littérature (Dequiedt et al., 2011; Kuramae et al., 2012).

Dans ce chapitre, nous avons recherché les déterminants microbiens des propriétés fongistatiques des sols envers *Fusarium graminearum*. Une plus grande alpha-diversité bactérienne a été retrouvée dans les sols résistants. Des résultats similaires sont rapportés par Legrand et al., (2019) qui ont mesuré le maintien dans les sols de *F. graminearum*. Dans des écosystèmes aussi variés que le sol et la lumière intestinale, il a été observé qu'une plus grande diversité microbienne constituait un frein à l'installation d'agents pathogènes. Un des mécanismes suggéré dans ce cas est la compétition pour les nutriments (Garbeva et al., 2004; Legrand et al., 2019; Spragge et al., 2023). Cependant dans notre expérimentation, la croissance du pathogène n'était pas limitée par les nutriments, fournis par le milieu de culture (chapitre 2). Cette observation suggère que c'est plutôt par un mécanisme d'antagonisme, par la production de composés antifongiques, que la communauté microbienne inhibe *F. graminearum*. Or, a été observé que la production de Composés Organiques Volatiles (COV) est parfois positivement (Hol et al., 2015) et parfois négativement (Abis et al., 2020; Van Aagtmaal et al., 2018) corrélée à sa diversité. La mesure de la production de COV par les sols de notre échantillon permettrait de confirmer si c'est ce mécanisme qui est déterminant pour la fongistase envers *F. graminearum*, et s'il est lié à la diversité.

Dans le chapitre 2, nous avons identifié les caractéristiques pérennes du sol (cluster) comme ayant une influence sur la fongistase. Le cluster le plus suppressif présentait aussi une diversité légèrement plus élevée, mais pas de façon significative. Les caractéristiques pérennes avaient aussi un effet sur la composition des communautés bactériennes du sol. Pour autant, la fongistase n'était corrélée avec la composition que pour la souche MDC\_FgU1, et pas pour MDC\_Fg1 ni pour l'indice de fongistase combinant les résultats pour les deux souches. Bien que les indices de fongistase pour les deux souches de *Fusarium graminearum* étaient fortement corrélés, leurs projections sur la PCoA étaient opposées. Ce résultat n'indique pas de rôle de la composition globale dans l'effet fongistase de nos sols. Cependant, différentes espèces peuvent assurer des fonctions similaires (redondance fonctionnelle) (Louca et al., 2018), donc des communautés microbiennes de compositions différentes peuvent fournir le même service, en l'occurrence celui de l'inhibition d'un pathogène. L'étude

fonctionnelle de ces communautés permettrait de confirmer cette hypothèse dans le cas de notre échantillon.

En diversité et en composition des communautés bactériennes, nous avons trouvé une plus grande différence entre sols résistants et indéterminés, qu'entre sols sensibles et indéterminés, ce qui suggère que le caractère résistant de certains sols repose potentiellement sur la présence et l'abondance de certains microorganismes. Dans nos échantillons, le genre *Burkholderia* était significativement associé à une plus forte inhibition de *F. graminearum*. Ce genre est décrit comme majoritaire parmi les isolats ayant un pouvoir fongistatique sur *F. graminearum* dans une étude de Lisboa et al. (2015). Cette Protéobactérie anciennement affiliée au genre *Pseudomonas* est potentiellement productrice d'antibiotiques. Bien que présentant un intérêt comme produit de biocontrôle, la proximité phylogénétique des souches présentes dans l'environnement avec celles pathogènes pour l'homme a limité son utilisation (Compant et al., 2008; Depoorter et al., 2016; Eberl and Vandamme, 2016). Le groupe « résistant » possédait plus d'espèces indicatrices, ce qui pourrait découler de la plus grande diversité bactérienne retrouvée dans ce groupe. En outre, plusieurs espèces du genre *Paenibacillus* étaient indicatrices du groupe « résistant ». Ces bactéries sont également productrices de composés antimicrobiens (Grady et al., 2016).

En résumé, nous avons observé l'influence de la diversité, de la composition et de l'abondance d'un antagoniste spécifique sur la fongistase. Ces indicateurs sont liés : une plus grande diversité microbienne augmente la probabilité de présence de bactéries potentiellement antagonistes de *F. graminearum*. Il se peut donc que la fongistase s'explique non pas par un mécanisme spécifique ou général mais par une combinaison de mécanismes liés. Le test de la transmissibilité du potentiel fongistatique par inoculation d'un sol résistant dans un sol sensible pourrait déterminer, d'après la définition proposée (Schlatter et al., 2017), s'il s'agit de l'un ou l'autre des mécanismes.

Les sols présentaient une grande variabilité de profondeur de séquençage, ce qui limite l'interprétation des données. Le nombre d'amplicons par échantillon variait d'un facteur 100 et le plateau n'était pas atteint pour tous les échantillons sur la courbe de raréfaction (Fig. 27 - Annexes). Il est donc possible que de nombreuses espèces bactériennes n'aient pas été détectées dans les sols présentant une plus faible profondeur de séquençage. Ces différences peuvent être dues aux différences de rendement lors de l'extraction d'ADN, ou à la dégradation des ADN qui limite l'amplification avant le séquençage. Les différences de profondeur n'étaient pas expliquées par le type de sol dans notre échantillon (données non incluses).

L'avantage de notre protocole expérimental était d'observer l'effet de la communauté microbienne dans sa globalité, puisque les microorganismes existent et fonctionnent en interaction. Nous avons pu

ensuite rechercher l'origine des différences de fongistase observées, à travers l'étude de différents indicateurs (diversité, la composition, abondance de taxons d'intérêt). Afin d'élucider le mécanisme responsable de la fongistase observée pour différentes souches de *F. graminearum*, il serait nécessaire de mesurer aussi la biomasse, l'activité et les fonctions de la communauté microbienne. Il a en effet été observé que la biomasse, la disponibilité des nutriments et l'activité des microorganismes indépendamment de la taxonomie pourraient aussi jouer un rôle dans la fongistase (Bonanomi et al., 2017; Sipilä et al., 2012). La quantité de matière organique ou l'azote n'étaient cependant pas corrélée à l'effet fongistase dans notre cas.

Outre la communauté bactérienne, la fongistase et le caractère suppressif pourrait aussi être conditionnée par les micro-eucaryotes présents dans le sol (et notamment les autres espèces du genre *Fusarium*) (Garbeva et al., 2011; Sipilä et al., 2012; Todorović et al., 2023) qu'il serait nécessaire de recenser afin d'avoir une image plus complète de la communauté microbienne des sols et des acteurs de la fongistase.

La fongistase dans les sols ne représente qu'un mécanisme qui contribue au contrôle des pathogènes, par la limitation de l'inoculum primaire. Le contrôle du pathogène est aussi réalisé par les communautés bactériennes en association avec les plantes, dans les racines et la rhizosphère. Ces communautés dépendent entre autres du filtre que constitue le changement d'environnement du sol à la rhizosphère et aux racines, et de la sélection effectuée par la plante. Pour espérer favoriser l'inhibition du pathogène par ces communautés recrutées par la plante, il est nécessaire de connaître les déterminants de l'assemblage de ces microbiomes.

## Conclusion

Grâce à l'étude de 103 échantillons représentant une grande diversité de type de sols et de pratiques agricoles, nous avons observé l'influence de l'environnement sur la constitution du microbiome bactérien et nous avons identifié que la diversité bactérienne et la présence de taxons antagonistes dans les sols étaient liées au potentiel de fongistase envers *F. graminearum*.

## Récapitulatif n°3

Après avoir évalué l'impact des caractéristiques pérennes du sol, nous avons pu identifier les déterminants microbiens de la fongistase du sol envers *F. graminearum*. Ce phénomène est lié d'une part à une plus grande diversité bactérienne, et d'autre part à l'abondance de taxons particuliers. Cependant, il demeure un angle mort dans l'origine de ce phénomène en l'absence d'un tableau complet du microbiome (activité, microeucaryotes...). Nous avons par ailleurs observé l'influence des caractéristiques physico-chimiques du sol et du système de culture sur la composition de la communauté bactérienne des sols.

Les microorganismes du sol, en plus de leur activité directe de régulation des agents pathogènes, constituent un réservoir à partir duquel la plante peut établir des interactions plus ou moins étroites jusqu'à recruter son ou ses microbiome(s). Pour comprendre dans quelle mesure le réservoir d'origine présent dans le sol détermine le microbiome associé aux plantes et comment ces interactions peuvent être influencées par les pratiques agricoles, nous avons dans le chapitre suivant cherché à caractériser les flux microbiens entre les différents compartiments du sol : sol de réserve, sol rhizosphérique, et sol racinaire.

## Chapitre 4 : assemblage du microbiome du blé

*(Article en préparation pour soumission)*

### Influence of management system and soil type on the wheat belowground microbiome

#### Abstract

Plant-associated microbiomes constitute a promising resource for crop health. Particularly, rhizosphere and root microbiome recruited from the soil play a pivotal role in plant nutrition and protection against pathogens. The assembly process depends on many factors and further research is needed to understand the constitution of this microbiome in order to be able to influence it. With this work we propose to study the bacterial community in relation to soil properties and management practices to unravel the filters that determine winter wheat microbiome assembly. We collected bulk soil, rhizosphere and root samples from 98 wheat fields in the Limagne plain (France): 60 had been managed with intensive practices, 19 with organic farming and 19 with soil conservation practices, for at least 5 years. We sequenced the 16S ribosomal subunit to perform metabarcoding on the bacterial community. We found differences in composition and diversity between the three compartments as well as the three management systems. Alpha-diversity was significantly higher in the plant compartments (rhizosphere and roots), although a greater number of different phyla and classes were found in the soil. We observed the transmission of the microbiome throughout the compartments, highlighting the importance of the microbial pool in the bulk soil. Management systems and soil characteristics impacted composition in all three compartments. To a lesser extent, cultivar also slightly impacted the bacterial composition in the roots and the rhizosphere. With this work we show the potential of different management systems to modulate plant microbiome, by modulating the recruitment pool and process.

## Introduction

Like all multicellular organisms, plants are tightly associated to microbes. They interact in many ways with both micro-eukaryotes and prokaryotes that are an essential part of their holobiont.

The microbial community thus constitutes an interesting resource that is studied to increase or preserve crop health as an alternative to phytopharmaceutical solutions. Among the beneficial properties of this community are notably antagonism and competition with pathogens, facilitation of nutrient acquisition and production of growth hormones for plants (Berendsen et al., 2012).

These beneficial interactions take place in both aerial and underground compartments, at every stage of the plant life cycle (Bulgarelli et al., 2013). The plant microbiome assembled throughout its development derives from the seed microbiome as well as the environmental communities found in water, air and soil. In particular, the plant belowground microbiome mainly depends on the available soil microbiome that acts as a “microbial seed bank” (Park et al., 2023; Philippot et al., 2013). Bulk soil microorganisms also play an indirect role on plant health, through the role they play in nutrient cycling and by inhibiting or competing with soil-borne pathogens.

The plant actively recruits its belowground microbiome from the soil, by providing microorganisms with carbon sources through root exudation (Park et al., 2023; Santoyo, 2022). Some microorganisms specialize in these interactions, and are found specifically in the rhizosphere or the roots (Munoz-Ucos et al., 2021; Philippot et al., 2013). The plant exerts a selection pressure and represents a filter that locally shapes the microbial community. Each plant organ and compartment harbors a distinct selected microbial community, it is therefore interesting to consider separately the microbiome found in the rhizosphere, and in the roots.

The recruited microbiome is specific to each plant, it varies depending on plant species, and to a lesser extent, plant cultivar (Acuña et al., 2023; Mahoney et al., 2017; Rossmann et al., 2020). Additionally, it is now known that the recruitment process is modulated by external factors affecting the plant, such as biotic and abiotic stress or nutrient availability (Hartman and Tringe, 2019; Trivedi et al., 2020).

Every microorganism has an optimal carbon source, oxygen and light levels, pH and temperature for its development, as well as dependencies on other organisms in their trophic chain. Soil microorganisms are no exception and their abundance and richness are determined by pedo-climatic and edaphic factors such as soil texture, structure, pH and chemical composition (Dequiedt et al., 2011; Wang et al., 2019; Zhang et al., 2016).

By locally impacting soil physicochemical properties, several crop management practices could also directly or indirectly impact soil microbial communities and their functioning. For instance, the

applications of compost can increase organic matter and available nutrient, tillage modifies soil structure and ergo microbial habitats, while plant diversity in crop rotations diversifies roots exudates consumed by microorganisms (Constancias et al., 2015; Hartmann, et al., 2015; Stefan et al., 2021; Yin et al., 2010). Management practices such as mineral fertilization also impact the plant recruitment by changing nutrient availability (Kavamura et al., 2018; Liu et al., 2020).

In short, resulting plant microbiome depends on (i) edaphic factors that pre-determine the microbial pool, (ii) the plant genotype and (iii) other environmental factors that modulate plant needs and recruitment.

With this work, we try to determine the influence of each factor on the assembly of the wheat belowground bacterial community. To that end, we sampled 98 winter wheat (*Triticum aestivum*) fields in the Limagne plain, a small area in central France with an important cereal production. The same fields were previously involved in a study on soil fungistasis (Simon et al., 2023) and represent three management systems across a wide variety of soil types in a restricted geographical area. We performed metabarcoding on full-length 16S ribosomal DNA on bulk soil, rhizosphere and roots. We then compared the bacterial diversity, structure and composition of the three compartments depending on physicochemical characteristics and management practices. Ultimately, we wish to assess the potential of management systems, through diverse agricultural practices, to either shape the bulk soil microbiome or influence its recruitment.

## Material and methods

### Study area

The context of the study area is further described in (Simon et al., 2023). In short, samples were taken in an area covering approximately 25km from north to south and 20 km from east to west, in the Limagne plain. The Limagne plain is a sedimentary formation crossed by the Allier River (Puy-de-Dôme, France). The climate is semi-continental, the average annual precipitation was 573 mm and the mean annual temperature was 12.2°C between 2000 and 2018 (Météo France,2019). The average thermal amplitude is moderate (difference of 16.4 °C between the average temperature of the hottest and coldest month).

### Plot characterization

The samples were collected in 98 plots from 19 farms, among which 8 farms (19 plots) were under organic farming, two (19 plots) were under conservation farming, and nine (60 plots) were managed with intensive practices. Organics systems have longer rotations, no phytosanitary treatment or synthetic fertilizers, and often use organic amendments. Soil conservation systems have longer rotations, no or little soil tillage, can use phytosanitary treatments and synthetic fertilizers, and often use cover crops. Intensive systems have shorter rotations and can use tillage, phytosanitary treatments and synthetic fertilizers. Agricultural practices five years prior and during the year of sampling were characterized in detail for each plot through surveys with the farmers. Variables included the number of soil ploughing, the number of different crops species in the rotation and the Treatment Frequency Index (TFI). The calculation of the TFI is described in Simon et al. (2023).

### Soil and root sampling

Bulk soil, rhizosphere and root samples were collected in May 2021 during the wheat flowering period. The samples were taken at least four meters from any border, at a 150 mm-depth. Five sampling points (bulk soil) and five plants (roots and rhizosphere) separated by two meters were chosen for each plot and pooled. All the equipment was disinfected with ethanol between every plot. The samples were then stored at -80°C before further processing.

The protocol to separate root and rhizosphere samples was adapted from Simmons et al. (2018). In short, samples were thawed at 4°C and plants were firmly shaken to get rid of loosely bound soil, and then shaken in sterile 4°C water. The remaining tightly root-adhering soil was considered as the



rhizosphere. Individual roots with the remaining soil were cut with sterile scissors and placed in tubes containing buffer (900mL sterile H<sub>2</sub>O + 6.075g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + 7.875g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 900μL Triton X-100) and vortexed 3 times 30 seconds. The roots were removed and the liquid phase containing the buffer and the remaining soil was centrifuged for 10 minutes at 4000g to collect rhizospheric soil. The rhizosphere and root samples were then stored at -80°C before DNA extraction.

## DNA extraction and amplification

The DNA was extracted using the FastDNA™ SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals) following the manufacturer's instructions. Briefly, 200mg of each soil was grinded in detergent to disrupt and dissolve membranes. After centrifugation with a solution to precipitate proteins, the supernatant was mixed with a DNA-binding silica matrix. The remaining solution was washed and filtered to obtain only the product of extraction in DNase- and Pyrogen-Free Water. The purity and concentration of the extracts were measured with a NanoDrop™ spectrometer (Ozyme) and Qubit™ fluorometer (Thermo Fisher Scientific). When needed, the samples were purified with ethanol precipitation: 3 volumes of ice-cold 96% ethanol and 0.1 volume of sodium acetate were added to the extracts and DNA was allowed to precipitate at -20°C overnight. After centrifugation the supernatant was removed and the pellet was washed twice with ice-cold 75% ethanol following the same process and resuspended in DNase-free water.

Full length 16S ribosomal DNA (V1-V9 regions) fragments were amplified following the PacBio procedure for multiplexed SMRTbell library preparation and sequencing. The extractions were diluted to reach approximately 0.2 ng/μL of DNA in 10mM Tris-HCl at pH 8 and 5μL were used in the PCR. Each sample was then mixed with 1.5μL PCR grade water and 12.5μL 2X KAPA HiFi HotStart ReadyMix (Merck). In this protocol, there are 8 different barcodes integrated to the forward primers (5'-AGRGGTYGATYMTGGCTCAG -3') and 24 to the reverse (5'- RGYTACCTTGTTACGACTT -3') so that each sample in two 96-well plates can have a different barcode combination. The primers were diluted in Tris-HCl to reach 2.5μM and 3μL of each primer was added to the reaction. The plates were then put in a thermocycler at 95°C for 3 minutes, then put through 23 cycles at 95°C for 30 seconds, 57°C for 30 seconds and 72°C for 60 seconds, and stored at -20°C before sequencing. Expected amplicon size was around 1500bp. The libraries were prepared, and sequenced in a PacBio Sequel II by the Gentyane platform at INRAE (France).

## Physico-chemical analysis

The texture of the soil (clay, silt, and sand fractions, NF X31-107), and its chemical properties i.e. pH(H<sub>2</sub>O) (NF ISO 10390), available phosphorus (Olsen method, NF ISO 11263), exchangeable potassium (NF ISO 23470), organic matter concentration (NF ISO 14235), carbonates concentration (NF 10693), Cationic Exchange Capacity (CEC) (NF ISO 23470) and DTPA-extracted iron and copper (NF X31-121) were measured by a soil analysis laboratory (SADEF).

## Data analysis

All data processing and analyses were conducted under R 4.2.2. After demultiplexing and removal of the barcodes, the reads were processed with {DADA2} (Callahan et al., 2019). The primers were removed, and the reads were filtered to keep only fragments between 1000 and 1600bp. The sequences were dereplicated and the errors were corrected thanks to the “learnerrors()” function of the package. The sequences were then denoised and assigned a taxonomy according to the Silva database. The resulting data was then treated with the {phyloseq} package. The sequences were filtered to keep only bacterial sequences and exclude mitochondria, chloroplasts and archaea. The shared OTUs were plotted using the {MicEco} package, and extracted with {metagMisc}. Alpha-diversity indexes were extracted and Principal Coordinates Analysis were performed on Bray-Curtis distance with the {phyloseq} package on rarefied data. Permanova analyses were performed with the {vegan} package using 999 permutations. Pairwise permanova was conducted with the {pairwiseAdonis} package, with included p-value adjustments. The diversity indexes were then used in a mixed linear model with the plot as the fixed effect (package {lme4}) to determine the differences in diversity between compartments. Diversity indexes were also used in a linear model to assess the effect of environmental variables within each compartment. The ternary plot was constructed with the {microbiomeutilities} package and plotted with {ggtern}. Indicator families, *i.e.* families that were overrepresented in certain groups, were determined using the {Indicspecies} package. The heatmap was plotted with {ComplexHeatmaps}. The core taxa were retrieved with the package {microbiome} with a 50% prevalence threshold.

## Results

### Microbial variations across belowground compartments

In the 3 607 891 amplicons sequenced in total, 54 055 Operational Taxonomic Units (OTUs), were identified and matched to 678 genera, 295 families, 153 orders, 59 classes and 28 phyla. The greatest number of amplicons was achieved for the roots (1 530 593), but the rhizosphere and the soil had a greater number of different OTUs (Observed Diversity) (Tab. 8).

In each compartment (*i.e.* soil, rhizosphere and root), approximately a quarter of the total taxa were specific (Fig. 16). Soil was the compartment with the highest number of unique taxa, not shared with other compartments (29% of total sequenced OTUs). Only 8% (4380 OTUs) were detected in all of the three sampled compartments, but these shared OTUs accounted for respectively 56%, 59% and 56% of the sequenced amplicons in the soil, rhizosphere and roots. Rhizosphere and roots were the two compartments that shared the most taxa (8%).

Before rarefaction, mean Observed Diversity was 387, 533 and 565, and mean Shannon Index was 4.6, 5.5 and 5.6 in the soil, rhizosphere and roots, respectively. Observed Diversity (OD), and Shannon Index (SI) significantly increased in the roots and rhizosphere compared to the soil (after a Tukey test, OD:  $p < 0.05$ , SI:  $p < 0.001$ ). OD and SI in the roots were significantly positively correlated with those of the rhizosphere of same individuals, but not of the soil ( $p = 0.05$ ). Diversity was not significantly different between systems (Fig. 17A).

Permanova (999 permutations) on the distance between samples showed significant dissimilarity between plots, compartments, as well as between management systems ( $p = 0.001$ ,  $R^2 = 0.39$ , 0.04 and 0.02, respectively). Together, those three variables explained 45% of the variance. Pairwise permanova indicated that the centroids of compartments and systems taken two-by-two were all significantly different ( $p < 0.003$ ). Average Bray-Curtis distance was greater between samples within a given compartment (0.96, 0.92 and 0.91 for soil, rhizosphere and roots) than between the different compartments of one sampled plot (0.89). The first axis of the PCoA on the Bray-Curtis distance explained 5.7% of variance. Compartments were separated along the Axis 2, that explained 3.4% of variance. Roots and soil samples were more similar to rhizosphere samples than to one another (Fig. 17B).

Table 8 : Number of amplicons sequenced and affiliated taxa by compartment and taxonomic rank. Amplicons is the number of raw sequences obtained from sequencing, after filtering to keep bacteria only.

|                  | <b>SOIL</b> | <b>RHIZOSPHERE</b> | <b>ROOTS</b> | <b>GLOBAL</b> |
|------------------|-------------|--------------------|--------------|---------------|
| <b>PHYLUM</b>    | 28          | 26                 | 26           | 28            |
| <b>CLASS</b>     | 51          | 49                 | 50           | 59            |
| <b>ORDER</b>     | 133         | 135                | 127          | 153           |
| <b>FAMILY</b>    | 249         | 254                | 240          | 295           |
| <b>GENUS</b>     | 504         | 573                | 531          | 678           |
| <b>OTU</b>       | 23 506      | 23 547             | 22 587       | 54 055        |
| <b>AMPLICONS</b> | 1 021 971   | 1 055 327          | 1 530 593    | 3 607 891     |

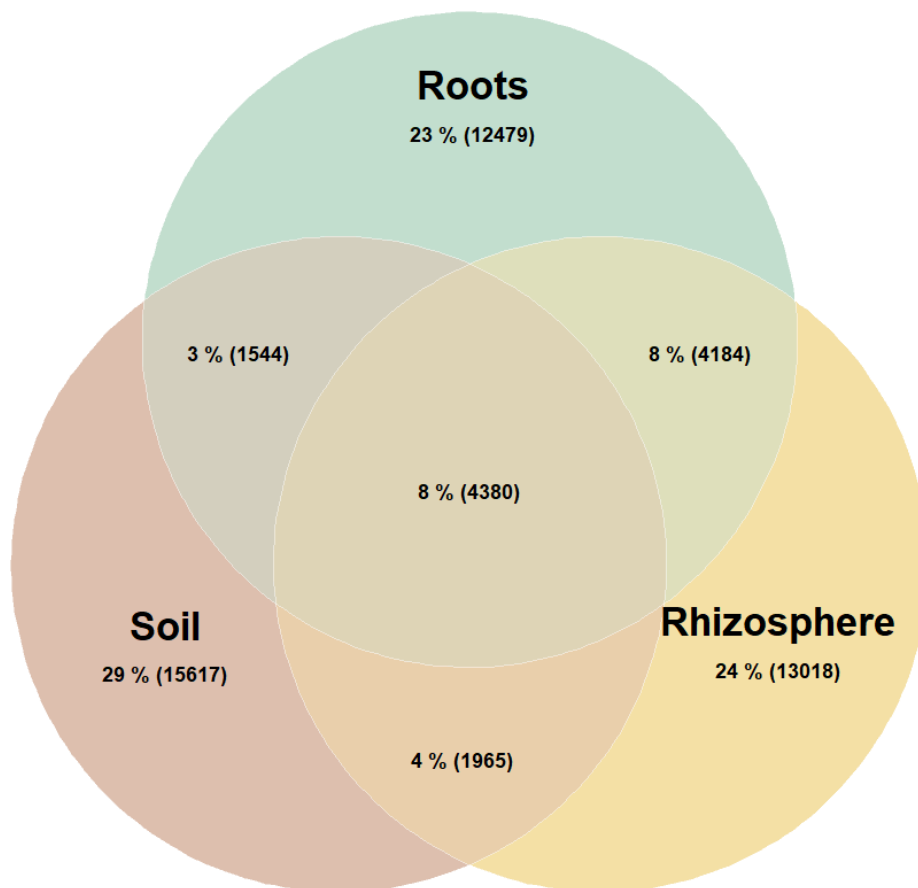


Figure 16 : Shared OTUs between the three sampled compartments. Numbers in parentheses show the number of OTUs and percentage are either the proportion of shared (intersects) or specific OTUs.

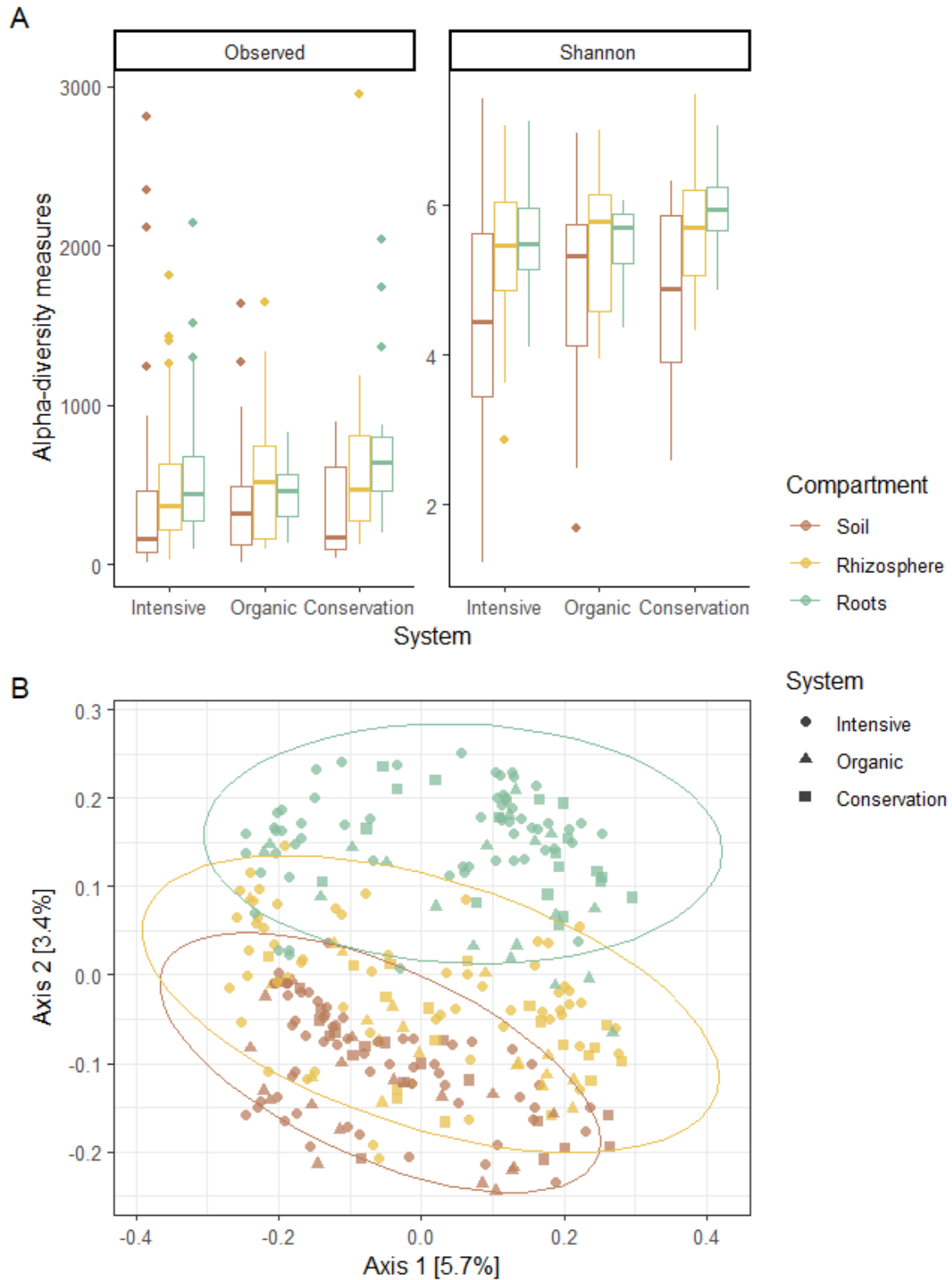


Figure 17 : Diversity of the three sampled compartments. (A) alpha diversity of the three management systems in the three compartments (Observed Diversity and Shannon Index). (B) Principal coordinates analysis on Bray-Curtis dissimilarity between samples of all three compartments. Ellipses represent the 95% confidence interval of a multivariate t-distribution.

The sampled soils exhibited a lot of variability regarding phyla proportions. In all three compartments, the main phyla (>1% of total relative abundance) were Proteobacteria, Bacteroidota, Actinobacteria, Acidobacteria, Verrumicrobiota, Gemmatimonadota, and Planctomycetota. Proteobacteria were the most represented phylum. Proteobacteria were particularly dominant in the rhizosphere and the roots (up to 50% in the roots), and a greater diversity of phyla was observed in the soil. Firmicutes represented more than 1% of total abundance in the rhizosphere and roots. Myxococcota represented more than 1% of total abundance in the soil and roots. Patescibacteria represented more than 1% of total abundance in the roots only. Apart from Verrumicrobiota, and Bacteroidota in soil and roots, main phyla were significantly different in proportion between compartments (Fig. 18).

A mixed-effect linear model with the plot as the fixed effect showed that compared to the soil, Proteobacteria were in slightly bigger proportions in the rhizosphere ( $p=0.03$ ) and the roots ( $p=0.001$ ). Acidobacteria, Myxococcota and Gemmatimonadota were in bigger proportions in the soil ( $p<0.001$ ), Actinobacteria were more abundant in the rhizosphere ( $p<0.001$ ) and Bacteroidota and Patescibacteria were more abundant in the roots ( $p<0.001$ ). The bacterial communities of all three compartments were composed of the same phyla except that compared to the soil, there were no Calditrichota in the plant compartments, there were no Hydrogenedentes in the rhizosphere and no Spirochaetota in the roots.

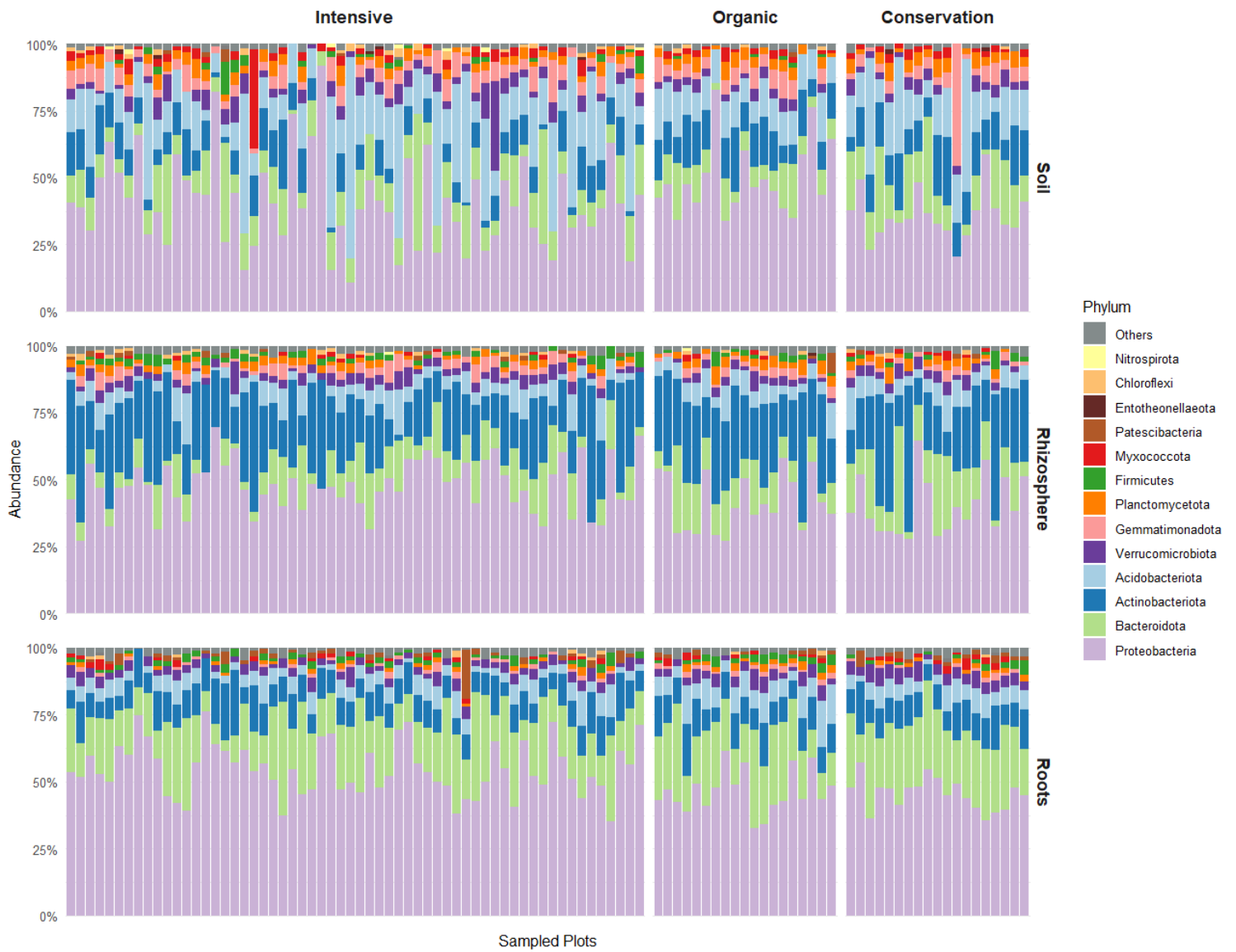


Figure 18 : Relative abundance of the main phyla (>1%) in the three compartments for each sample.



## Influence of management systems

The difference in relative abundance at the family rank between systems was differentially impacted depending on compartment (Fig. 19). Among the most abundant families in the soil, *Bacillaceae*, *Rhizobiales*, *Pedospaeraceae*, *Nitrosomonadaceae*, *Geodermatophilaceae*, *Myxococcaceae*, *Microscillaceae* and the WD2101 soil group appeared to have a greater relative abundance in intensive systems than the two others. *Dongiaceae* were more abundant in conservation plots and SC-I-84 in organic plots. In the rhizosphere, family 67-14 and *Erwiniaceae* were more abundant in conservation plots, LWQ8 and *Yersiniaceae* were more abundant in Organic plots, and *Oxalobacteraceae* were less abundant in organic plots. In the roots, *Devosiaceae* and *Saccharimonadaceae* were relatively more abundant in intensive plots.

The analysis of indicator species of each system for each independent compartment (indicspecies) revealed a greater number of representative taxa for organic and conservation management systems in the soil, rhizosphere and roots (Tab. 9), compared to the intensive system. In all three compartments, *Streptomyces canus* was an indicator of organic systems ( $p=0.02$  in the soil and the roots and  $p=0.01$  in the rhizosphere). *Luteitalea pratensis* was an indicator of organic and conservation systems in all three compartments ( $p=0.003$ ,  $0.006$  and  $0.003$ ). *Flavobacterium terrigena* was found in greater proportions in conservation systems ( $p=0.02$  and  $0.002$ ), and *Ensifer adhaerens* was an indicator of organic systems ( $p=0.04$ ), in the rhizosphere and the roots.

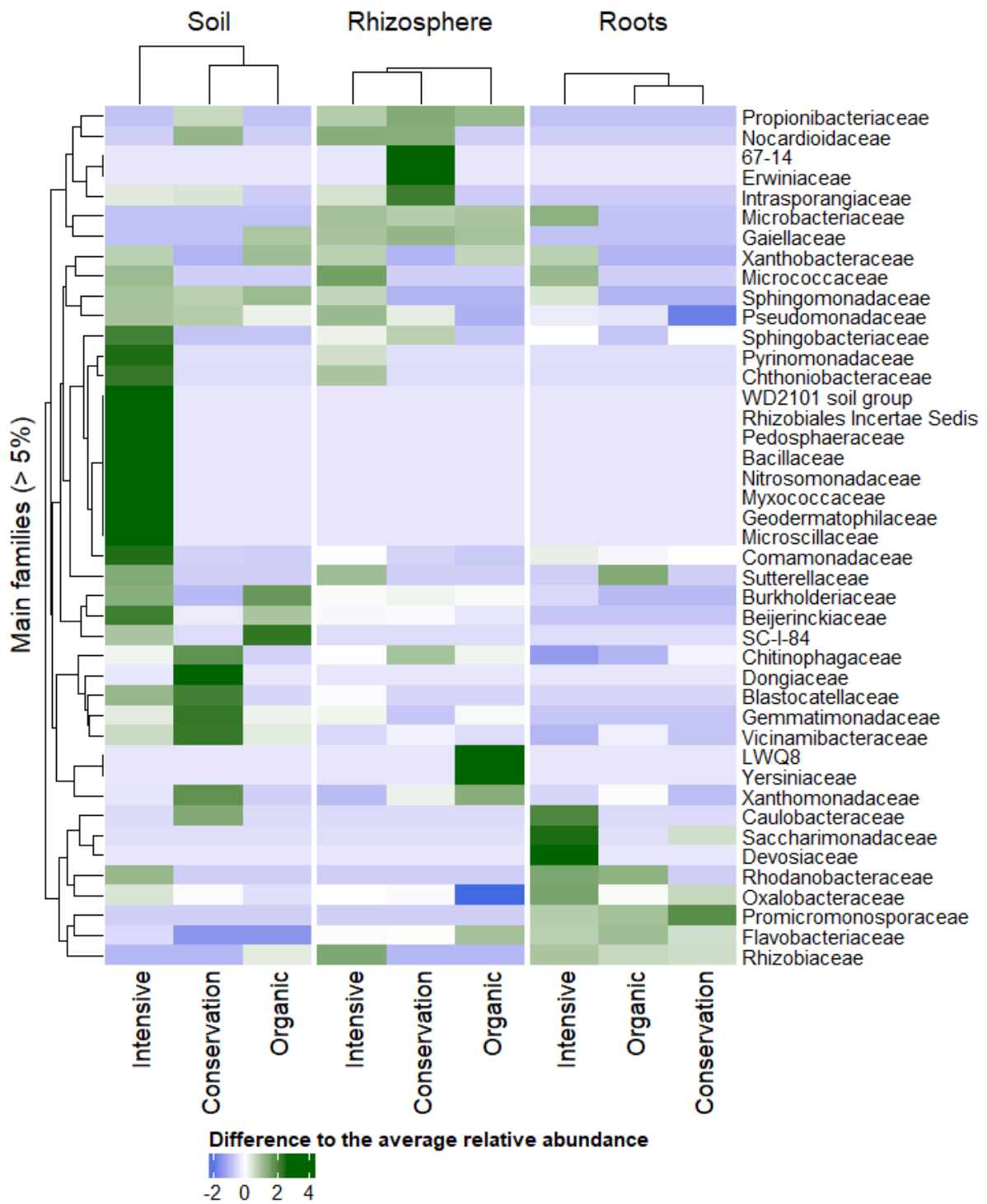


Figure 19 : Difference to the average relative abundance of the main families (>5% of total abundance) between systems in every compartment. Dendrograms represent clustering on similarities in the abundance profiles.

Table 9: Indicator species of management systems in each compartment. The analysis is on the main species (relative abundance >0.01). Species in bold are indicator of one system only. Asterisks indicate p-value (codes: 0 = \*\*\*, 0.001 = \*\*, 0.01 = \*).

|                                  | SOIL                                 | RHIZOSPHERE                        | ROOTS                               |
|----------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| Number of species                | 193                                  | 269                                | 227                                 |
| Significantly associated species | 8                                    | 10                                 | 10                                  |
| INTENSIVE                        | -                                    | <i>Acidovorax radialis</i> *       | <i>Pseudomonas graminis</i> *       |
| CONSERVATION                     | <i>Microbacterium pumilum</i> ***    | <i>Pseudomonas yamanorum</i> *     | <i>Flavobacterium terrigena</i> *** |
|                                  | <i>Bradyrhizobium erythrophlei</i> * | <i>Microbacterium deminutum</i> ** | <i>Flavobacterium flevense</i> *    |
|                                  | <i>Chthoniobacter flavus</i> *       | <i>Flavobacterium terrigena</i> *  | <i>Microvirga ossetica</i> ***      |
|                                  | <i>Acidovorax carolinensis</i> *     | <i>Acidovorax radialis</i> *       | <i>Pedobacter steynii</i> *         |
|                                  | <i>Agromyces ramosus</i> **          | <i>Luteitalea pratensis</i> **     | <i>Luteitalea pratensis</i> **      |
|                                  | <i>Luteitalea pratensis</i> **       | <i>Microlunatus aurantiacus</i> ** | <i>Bacillus butanolivorans</i> *    |
| ORGANIC                          | <i>Streptomyces canus</i> *          | <i>Streptomyces canus</i> **       | <i>Bacillus mycoides</i> **         |
|                                  | <i>Stenotrophomonas rhizophila</i> * | <i>Pseudomonas umsongensis</i> *   | <i>Streptomyces canus</i> *         |
|                                  | <i>Agromyces ramosus</i> **          | <i>Ensifer adhaerens</i> *         | <i>Ensifer adhaerens</i> *          |
|                                  | <i>Luteitalea pratensis</i> **       | <i>Rhizobacter gummiphilus</i> *   | <i>Pseudomonas graminis</i> *       |
|                                  |                                      | <i>Luteitalea pratensis</i> **     | <i>Microvirga ossetica</i> ***      |
|                                  |                                      | <i>Microlunatus aurantiacus</i> ** | <i>Pedobacter steynii</i> *         |
|                                  |                                      |                                    | <i>Luteitalea pratensis</i> **      |
|                                  |                                      |                                    | <i>Bacillus butanolivorans</i> *    |

## Plant microbiome assembly

On the PCoA, axis 1 explained 6.9% of the variance in the rhizosphere and 7.8% in the roots, axis 2 explained 3.6% in the rhizosphere and 2.9% in the roots (Fig. 20). The fitting of physicochemical variables and agricultural variables on the Bray-Curtis distance in the rhizosphere and the roots showed significant correlation with all the environmental and agricultural variables, apart from TFI and rotation (displayed as arrows on Fig 20A and 20B). Permanova confirmed that the distance and distribution of the samples from the three management systems was significantly different ( $p = 0.001$ ) in the rhizosphere and the roots.

A linear model including tillage, rotation, TFI and soil characteristics (clay, N, P, K, pH, carbonates) showed that Shannon Index in the soil and Shannon Index in the rhizosphere did not vary significantly with any variable. In a model including the same variables, Shannon Index in the roots increased significantly with phosphorus ( $p = 0.02$ ) and pH ( $p = 0.02$ ) and decreased with carbonates ( $p = 0.04$ ).

The analysis of the core taxa, *i.e.* detected in at least 50% of the samples, showed differences between the three compartments. There were only 4 taxa meeting this criterion in soil, 25 in the rhizosphere and 44 in the roots. On the 4 soil taxa, 2 were also rhizosphere and root core taxa (Tab. 11-Supplementary).

A subset of samples was selected to analyze the effect of the cultivar, keeping only cultivars that occurred five times or more. The analysis of the alpha diversity in the roots depending on the most represented cultivars revealed a lot of variability. The highest average diversity (Shannon index) was found in cultivars “RGT VIVENDO” and “TRIGOFORT” in the rhizosphere and the roots, although a pairwise t-test showed no group was significantly different from another (Fig. 21A).

The permanova on the Bray-Curtis distance showed a significant effect of the cultivar on beta-diversity in the rhizosphere and root samples ( $p = 0.01$ ) (Fig. 21B and 21C).

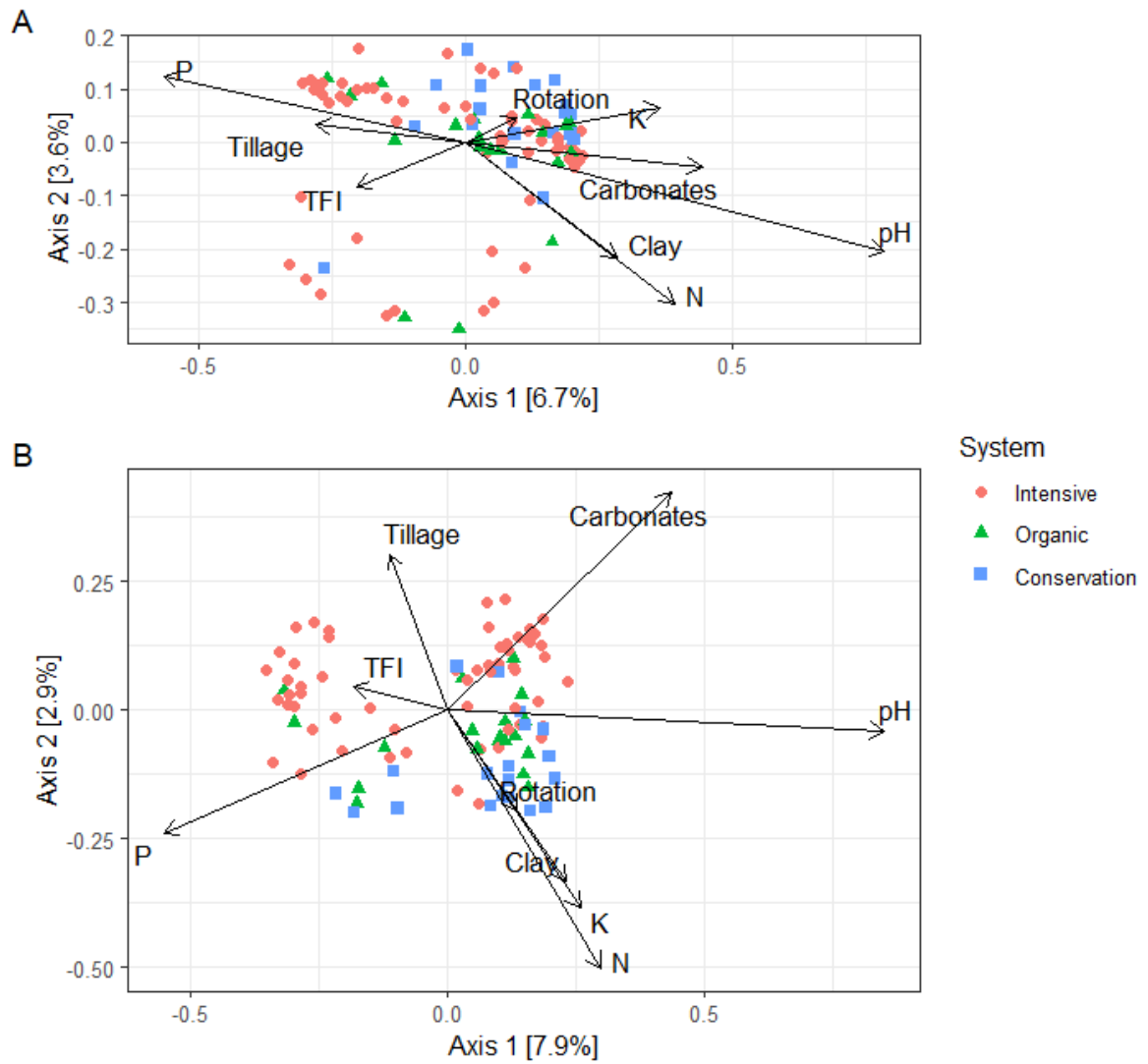


Figure 20 : Principal Coordinates analysis on Bray-Curtis distance between samples of (A) the rhizosphere and (B) the roots. The arrows indicate a higher value of the variable for the samples in this direction and the length indicate the intensity of the correlation.

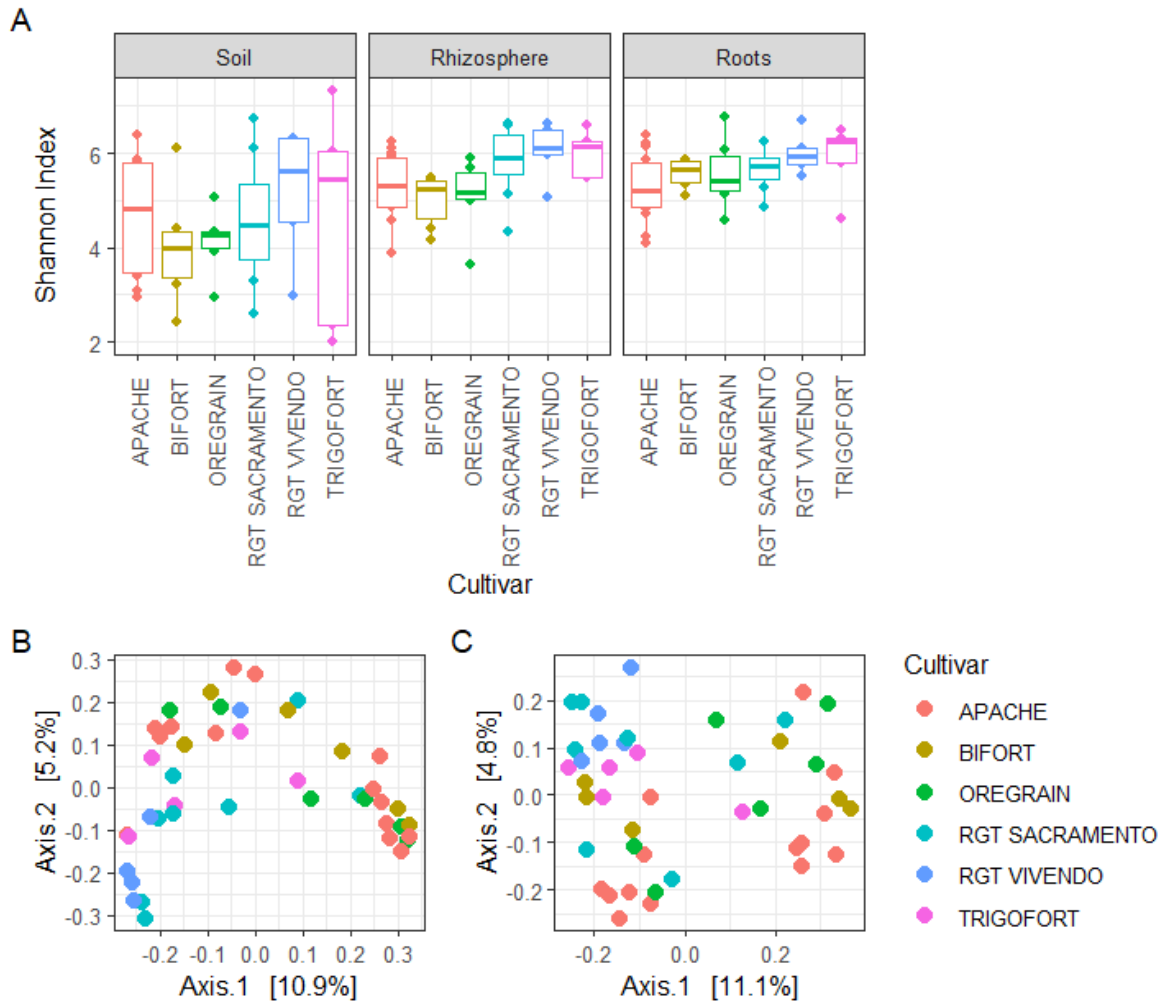


Figure 21 : Diversity of the six cultivars represented in five or more plots (A) alpha- diversity (Shannon Index) in the soil, rhizosphere and root samples of the corresponding cultivars. (B, C) Principal coordinates analysis on Bray-Curtis dissimilarity between rhizosphere (B) and root (C) samples of the main cultivars.

## Discussion

The aim of this analysis was to assess the factors that play a part in plant microbiome composition and assembly, and in doing so, determining if it possible to influence those processes through agricultural practices. To that end, we examined the soil, rhizosphere and root microbiome of around a hundred winter wheat plots, and compared the bacterial communities between management systems and specific management practices as well as physicochemical soil characteristics.

Compared to the total number of OTUs, there were very few OTUs shared between the three compartments, but the prevalence of those taxa accounted for over half of the total abundance in each compartment. The specific taxa in the roots and rhizosphere are most likely recruited from the soil (Berendsen et al., 2012), but might be undetected in this compartment, and enriched in the others.

From soil to roots, there is usually a decrease in diversity in the microbial community: the selection by the plant favors microorganisms specialized in this interaction and notably root exudates acquisition (Bulgarelli et al., 2013; Fan et al., 2017). In this analysis, we observed an increase in the average OTU diversity per sample in the plant compartments. This could either be explained by the extraction bias, or the enrichment of rare taxa from soil to plant that increase the detection. Indeed, the diversity per sample was increased in the roots, and the roots samples benefited from greater sampling depth (almost 50% more amplicons than the soil or the rhizosphere), increasing the chances of detecting less abundant taxa. Still, fewer phyla, classes, orders and families were identified in the roots compared to the soil, which suggests weaker phylogenetic diversity, and might be evidence for specialization. Additionally, there was an increase of the number of core taxa from soil to roots, highlighting the capacity of the plant to select and enrich specific microorganisms, independent on their initial abundance in the soil.

The roots and rhizosphere shared more OTUs and similarity with each other than with the soil, highlighting the role of plant filtering in the selection of the microbiome. Fan et al. (2017) also highlighted this filtering by the plant in an experiment including bulk soil, soil loosely and tightly adhering to wheat roots. However, samples from different compartments of the same plot had greater similarity than samples within a compartment, and the plot explained 39% of the variance. This reveals the role the initial recruitment pool in the soil plays in shaping the microbiome of the plant.

Proteobacteria were dominant in almost every sample : this is in line with observations from several other studies and can be attributed to the ubiquitous nature of these bacteria that can grow in very diverse conditions (Philippot et al., 2013). Bacteroidota, Acidobacteria and Actinobacteria were also very prevalent, which is often the case in soil and wheat microbiomes (Acuña et al., 2023; Mahoney et al., 2017; Rossmann et al., 2020).

We also managed to show the strong effect of the management system on composition. The relative abundance of the main bacterial phyla and families was impacted by the management, showing the modification of the microbial community on several levels. Interestingly, some bacterial species previously identified as beneficial were indicators of organic and conservation management systems. For instance, *Stenotrophomonas rhizophila* (identified as a stress protecting agent) in the soil (Alavi et al., 2013), *Bacillus mycoides* (able to induce systemic resistance) in the roots (2014 n.d.), *Ensifer/Sinorhizobium adhaerens* (nitrogen-fixing) in the rhizosphere and roots (Casida, 1982) and *Streptomyces canus* (antifungal producer) in all three compartments (Zhang et al., 2013) were indicators of Organic farming. *Bradyrhizobium erythrophlei*, a nitrogen-fixing symbiont of legumes (Yao et al., 2015), was an indicator of conservation systems in the soil. Only two species were indicators of intensive systems. In the rhizosphere, *Acidovorax radialis*, a species isolated from wheat roots attributed with plant-growth promoting properties (Li et al., 2011) was an indicator of intensive and conservation systems. In the roots, *Pseudomonas graminis*, used as a biocontrol agent (Collazo et al., 2017) was an indicator of intensive and organic systems.

Several studies report on the effect of agroecological practices on soil microbial indicators. In a five-year field experiment, Esmailzadeh-Salestani et al. (2021) found organic treatments to increase bacterial diversity. Stefan et al. (2021) found that increased crop diversity led to a shift in soil community composition that favored beneficial microorganisms, in one of two soils of a mesocosm experiment. On the other hand, many studies find soil perennial characteristics such as pH, carbon or clay content (Constancias et al., 2015; Naveed et al., 2016; Zhang et al., 2016) to be the main factor that shape soil microbial communities.

The difference between systems was greatest between conservation and intensive plots, regarding alpha-diversity, beta-diversity in the roots, and number of differentially abundant OTUs. Soil conservation systems are mainly defined by reduced or no tillage, and in our case, alpha-diversity was slightly higher in those plots, albeit not significantly. Similarly, Schmidt et al. (2018) found that tillage decreased bacterial diversity in the soil.

Interestingly, the effect of system and physicochemical properties appeared stronger in the roots, confirming that the environment, modulated in part by practices, affects not only the recruitment pool but also the recruitment process. Indeed, it is known that plant recruitment adapts and varies depending on environmental factors such as nutrient availability and stressors like pathogens (Hartman and Tringe, 2019; Liu et al., 2021).

Microbiome assembly is orchestrated by the plant from the recruitment pool depending on its environment, stage of the life cycle, and genotype. There was an effect of the different winter wheat



cultivar on bacterial composition. There were also differences of alpha-diversity between cultivars, however the number of individuals were uneven and small. Also, cultivars exhibiting higher diversity in the root and rhizosphere samples came from soils with higher soil diversity and overall diversity for a given sample was significantly correlated with the diversity of the same plot in the other compartments. This highlights the role initial soil diversity plays in shaping the plant microbiome diversity. Several studies found that wheat cultivars elicited different microbiome composition, although the effect was sometimes masked by other variables such as developmental stage, soil type or seasonality (Acuña et al., 2023; Mahoney et al., 2017; Quiza et al., 2023). Although the community differences between cultivars reported in the literature are not striking, the ability to elicit beneficial interactions with microorganism remains an interesting lever for plant health. If the selection efforts are oriented this way, those differences could develop and be efficient in the future.

With these results, we show that plant microbiome assembly at the rhizosphere and root level depends on soil microbiome, itself influenced by physicochemical variables, management practices that might influenced recruitment, and finally, wheat genotype. This study shows that the plant microbiome can be artificially, indirectly modulated. To uncover the effects and implications of these changes, an analysis of the functional traits of the microbiome would be needed. Lastly, to depict the full extent of microbiome composition and activity, the study of micro-eukaryotes would be needed as well.

## Conclusion

With this extensive sampling and data collection of soil characteristics, agricultural practices and cultivar, we were able to discriminate the factors that intervene in plant microbiome assembly. We showed the potential of management systems to play a major role in this process.

## Récapitulatif n°4

A travers l'étude du microbiome souterrain du blé, nous avons pu observer les différents filtres qui se superposent lors de son assemblage : tout d'abord, le microbiome recruté par la plante dépend du réservoir initial de microorganismes présents dans le sol. Ensuite, le recrutement effectué par le blé enrichit préférentiellement certains taxons (dont ceux du core microbiome). De plus, différentes variétés de blé peuvent recruter une communauté bactérienne différente. Enfin, nous avons mis en évidence que les pratiques agricoles, en plus d'influencer le réservoir, ont une influence forte sur la composition du microbiome de la plante, probablement par la modulation directe de ses besoins. L'objectif est désormais d'évaluer dans quelle mesure différents microorganismes dans le sol peuvent impacter la santé de la plante, lors d'une infection par le champignon *Fusarium graminearum*.

## Chapitre 5 : Rôle du microbiome du sol dans la mitigation des symptômes lors de l'infection

### Introduction

Le microbiome du sol, en plus de son implication dans la fongistase, sert de réservoir à la plante pour le recrutement de son microbiome racinaire (Vandenkoornhuysse et al., 2015). Le microbiome recruté peut à son tour entraver les agents pathogènes au niveau de la rhizosphère, et limiter leurs effets par l'induction de la réponse systémique (Alabouvette et al., 2006) ou l'amélioration de la santé de la plante (phytostimulation). Dans ce cadre, l'objectif de cette partie du projet était de déterminer si des différences particulières du réservoir de bactéries du sol, à partir duquel la plante construit son microbiome, se traduit par une réduction des symptômes lors de l'infection par *F. graminearum*.

La fongistase directe *in vitro* étant utilisée dans le criblage de souches pour le développement de solutions de biocontrôle (Besset-Manzoni et al., 2019), il est intéressant de savoir si cette propriété dans le sol est liée à une réduction des symptômes par un pathogène *in planta*. En effet, certaines espèces bactériennes comme *Pseudomonas* spp. (Y. Chen et al., 2018) ou *Streptomyces* spp. (Colombo et al., 2019) ont été décrites comme ayant à la fois des propriétés fongistatiques et de stimulation de la santé ou des défenses de la plante. L'idée était de tester l'existence, dans notre système expérimental, d'une relation entre la fongistase et la réduction des symptômes causés par *F. graminearum* lors de l'infection des épis.

Les résultats du test de fongistase (Chapitre 2 et 3), réalisé sur 103 sols et avec deux souches de *F. graminearum*, a permis de sélectionner neuf sols en fonction de leur pouvoir inhibiteur (fort, faible, intermédiaire) pour y cultiver du blé. Des épis de blé ont été inoculés par une suspension de spores issues de la plus agressive des deux souches, MDC\_Fg1, en conditions contrôlées (chambre de culture). Les symptômes de fusariose de l'épi (FHB) ont ensuite été mis en relation avec la composition des communautés microbiennes des neuf sols et avec les résultats du test fongistase.

## Matériel et méthodes

### Infection en chambre de culture

Pour tester le lien entre pouvoir suppressif du sol et protection de la plante lors de l'infection des parties aériennes, neuf sols ont été sélectionnés en fonction du résultat du test de fongistase. Le calcul de l'indice de fongistase (IFC) est décrit dans le matériel et méthodes du chapitre 3. Trois sols ont été sélectionnés pour être dans le premier tiers de la distribution de l'IFC (sensibles), trois dans le second (indéterminés) et trois dans le dernier (résistants). La variété de blé tendre RECITAL, sensible à la fusariose, a été choisie pour les plants. Afin que le microbiome des plantes soit issu principalement de celui du sol, les graines ont été stérilisées en les plongeant 40 minutes dans un bain d'hypochlorite de sodium, puis 3 fois 3 minutes dans l'eau stérile, 3 fois 7 minutes dans une solution de sodium thiosulfate (2%), 5 fois 3 minutes puis 45 minutes dans l'eau stérile.

Les graines ont ensuite été semées dans les sols préalablement prélevés dans les parcelles sélectionnées et mélangés à 10 % de perlite. Après germination et vernalisation, les plants ont été transférés dans des pots de 4L de sol dans une chambre de culture avec un cycle jour (16h, 20°C) - nuit (8h, 18°C) et 80% d'humidité. Pour chaque sol, à la floraison de l'épi maître (mi-anthèse), trois plants ont été inoculés avec une suspension de spores ( $10^5$  spores/ml) de *Fusarium graminearum* souche MDC\_Fg1, et trois avec de l'eau stérile. Pour chaque plant, 10µl de suspension ou d'eau stérile ont été déposés dans 12 des cavités florales sur 3 des épis. Les symptômes ont été notés pour chaque épi chacun des 7 jours suivant l'inoculation, en suivant une échelle de 0 (pas de symptômes) à 4 (score maximal) (Fig. 22).

|   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|---|---|---|

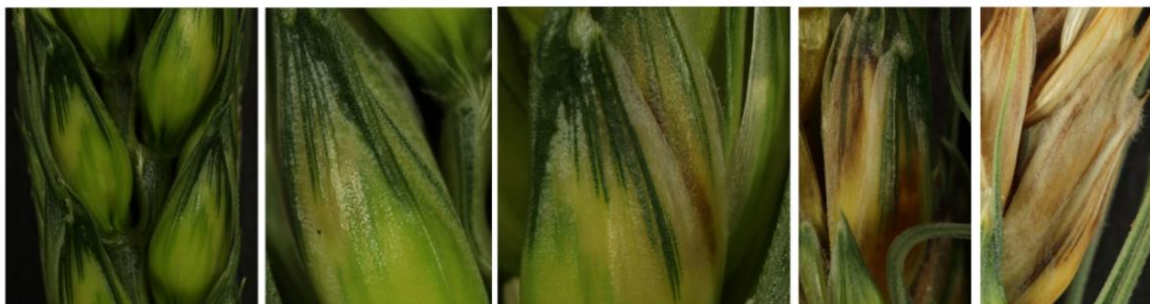


Figure 22 : Echelle de notation de symptômes de la fusariose de l'épi utilisée lors de l'essai d'infection en chambre de culture. Les notes vont de 0 (pas de symptômes) à 4 (épi jauni, score maximal).

## Caractérisation physico-chimique, agronomique et biologique des sols

L'analyse physico-chimique et agronomique de ces sols est décrite dans la section matériel et méthodes du chapitre 2. La caractérisation des communautés bactériennes par metabarcoding des sols est décrite dans le chapitre 3.

## Analyse des données

Les analyses de données ont été effectuées sur R (version 4.2.2). Le traitement des données de séquençage est décrit dans la section matériel et méthodes du chapitre 3.

Le package {phyloseq} a été utilisé pour calculer la diversité (Indice de Shannon) des communautés microbiennes et pour réaliser la PCoA (distance de Bray-curtis) sur les données raréfiées des neuf sols sélectionnés.

L'aire sous la courbe du développement des symptômes (AUDPC) lors de l'expérience d'infection correspond à l'aire des trapèzes constitués par chaque point de mesure. Cette mesure a ensuite été utilisée comme mesure de l'intensité des symptômes.

Le lien entre le développement des symptômes et la présence d'antagonistes bactériens de *F. graminearum* identifiés dans la littérature a été recherché. Le détail des genres sélectionnés est décrit dans la section matériel et méthodes du chapitre 3. Les genres conservés lors de l'analyse étaient ceux détectés dans deux sols ou plus parmi les neuf sols sélectionnés dans les analyses du chapitre présent.

## Résultats

### Symptômes de fusariose de l'épi

Tous les plants présentaient des profils similaires en termes d'évolution des symptômes. En sept jours la quasi-totalité des épis ont atteint la note maximale (4). L'intensité de l'infection, mesurée par la mesure de l'aire sous la courbe de notation (AUDPC) au cours des sept jours de notation, allaient de 12 à 14,9.

### Identification des déterminants microbiens pouvant expliquer les variations de symptômes

Aucune corrélation significative n'a pu être identifiée entre le développement des symptômes (AUDPC) et l'alpha ou la bêta-diversité dans les sols (Fig. 23). Les variations de distribution des genres majoritaires dans les compositions des communautés microbiennes des neuf sols semblent être principalement liées à la profondeur de séquençage des ADN extraits de ces sols (Fig. 24), même si une légère corrélation positive entre l'intensité de l'infection et l'abondance des genres *Gaiella* et *Rhizobacter* ( $p < 0.03$  et  $p < 0.02$ ) a pu être observée.

De plus, il ne semble pas y avoir d'enrichissement significatif en espèces de bactéries identifiées comme bénéfiques dans la littérature dans les sols pour lesquels les plantes présentaient le moins de symptômes. A l'inverse, l'abondance des genres *Mesorhizobium* (Lisboa et al., 2015), *Microbacterium* et *Variovorax* (Besset-Manzoni et al., 2019) est positivement corrélée à l'aire sous la courbe ( $p < 0.02$ , 0.005, et 0.04) (Fig. 25).

### Lien avec la fongistase

L'intensité des symptômes était positivement corrélée avec le pouvoir fongistatique des sols, mais pas de manière significative (Fig. 26). Il n'existait pas non plus de corrélation significative entre l'intensité des symptômes et les propriétés pérennes (cluster) ou variables (N, P, K) des sols, ou entre l'intensité des symptômes et le système de culture.

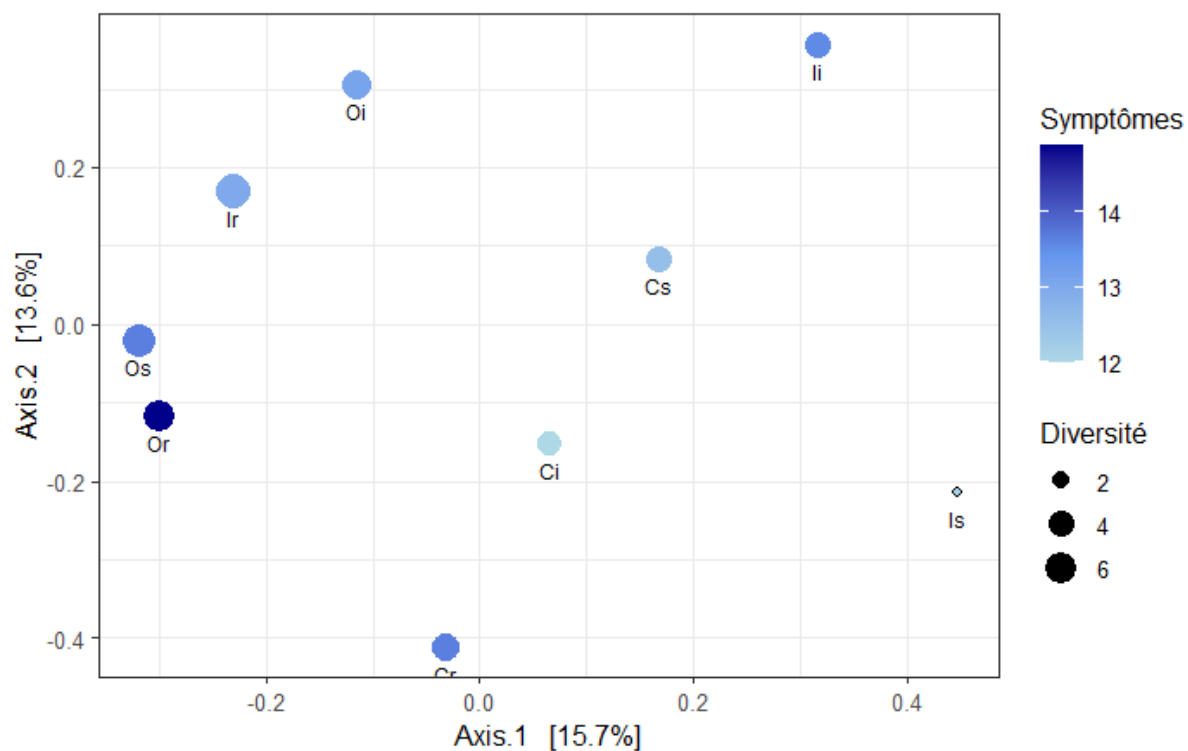


Figure 23 : PCoA (distance de Bray-Curtis) des sols utilisés lors de l'essai d'infection en chambre de culture. La taille des points indique l'alpha-diversité (indice de Shannon) dans chaque échantillon et la couleur l'intensité des symptômes de la fusariose de l'épi. Les noms correspondent au système pour la majuscule (C = conservation, I = intensif/conventionnel, O = organic/biologique) et la minuscule à la catégorie de fongistase qui a servi à leur sélection (r = résistant, i = indéterminé, s = sensible).

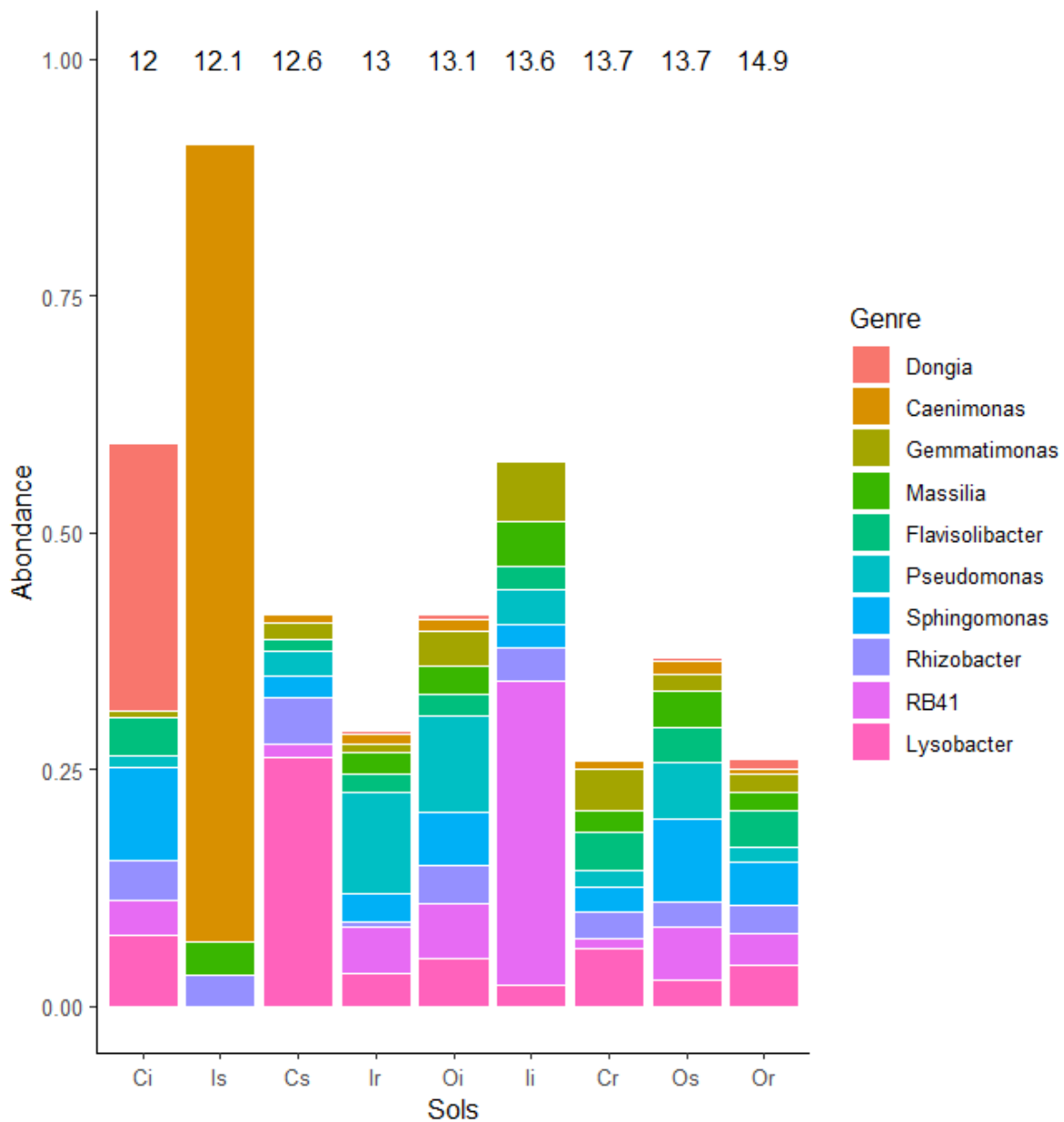


Figure 24: Proportions des dix genres bactériens les plus abondants dans les 9 sols utilisés dans l'essai d'infection en chambre de culture. Les couleurs représentent le genre. La valeur de l'AUDPC est affichée au-dessus du diagramme pour chaque sol. Les sols sont ordonnés par ordre croissant de l'AUDPC. Les noms correspondent au système pour la majuscule (C = conservation, I = intensif/conventionnel, O = organic/biologique) et la minuscule à la catégorie de fongistase qui a servi à leur sélection (r = résistant, i = indéterminé, s = sensible).



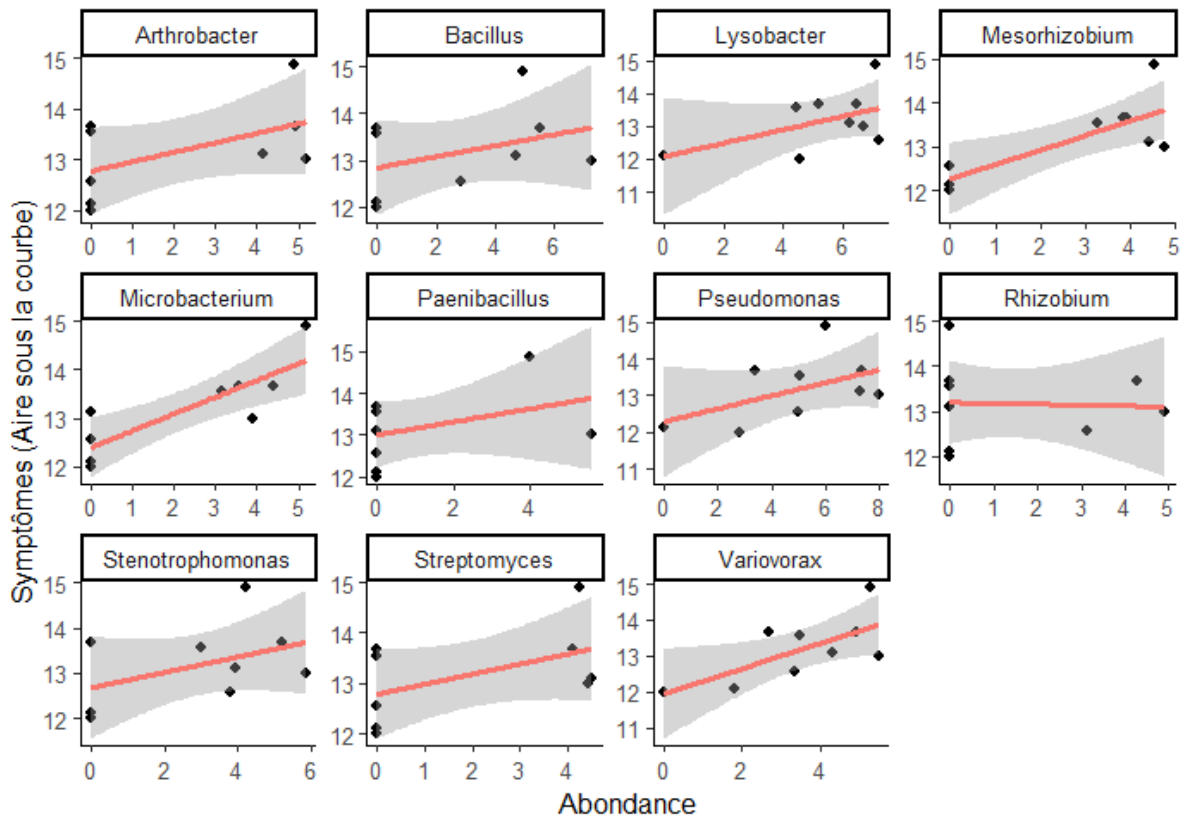


Figure 25 : Corrélation entre abondance des genres d'intérêt et intensité de l'infection.

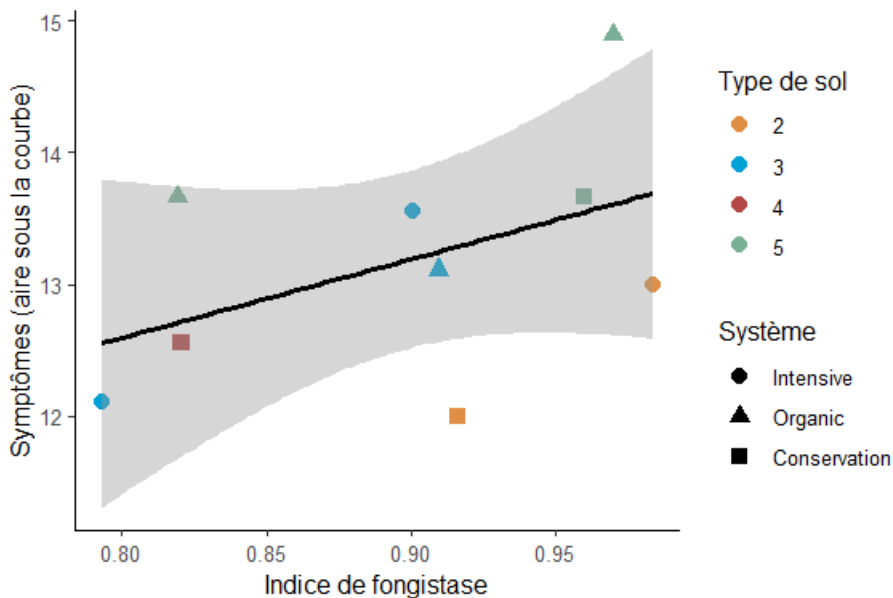


Figure 26 : corrélation entre l'évolution des symptômes (AUDPC) de la fusariose de l'épi du blé sur les neuf sols sélectionnés et l'indice de fongistase. Les couleurs représentent les clusters formés sur les caractéristiques pérennes du sol, (chapitre 2) et les formes les systèmes de culture.

## Discussion

Notre expérimentation, réalisée en conditions contrôlées, n'a pas révélé de lien entre microbiome (diversité et composition) et importance des symptômes de fusariose, si ce n'est une abondance un peu plus élevée de certains antagonistes microbiens dans certains sols, dont les plantes présentaient le plus de symptômes. Ces résultats pourraient en partie être dus aux différences de profondeur de séquençage entre les neuf sols, qui entraîne une détection accrue de tous les taxons dans les sols présentant le plus d'amplicons. Wei et al. (2019) ont pour leur part trouvé que la communauté microbienne du sol déterminait la survie de plants de tomate face à *Ralstonia solanacearum* et ont notamment observé une surabondance de *Bacillus*, de *Pseudomonas* et de gènes de production d'antimicrobiens dans le microbiome des plantes ayant survécu.

Nos résultats sont cependant à relativiser, car bien qu'il serve de réservoir à la plante, le microbiome ici étudié n'est pas celui de la rhizosphère ou des racines. En effet, le recrutement de son microbiome par la plante constitue un filtre qui peut sélectionner des microorganismes bénéfiques dans le sol, notamment lors de l'infection par un agent pathogène (Berendsen et al., 2018).

Les mécanismes de protection de la plante par les microorganismes de la rhizosphère sont la compétition et l'antagonisme directs, l'ISR, ou la phytostimulation globale de la plante (Bulgarelli et al., 2013). Dans notre dispositif, le pathogène inoculé directement dans les épis n'était pas en contact avec les microorganismes du sol ou de la rhizosphère. C'est donc seulement une protection des plantes par l'ISR ou la phytostimulation qui aurait pu être observée lors de cette expérimentation. Or l'ISR est un mécanisme qui a rarement été décrit pour le blé. Par ailleurs, pour confirmer le mécanisme à l'œuvre, il faudrait pouvoir mesurer l'ISR dans le blé, en quantifiant l'expression des gènes qui lui sont associés.

Ces résultats sont préliminaires, limités et ne permettent pas de conclure de façon définitive sur le rôle du microbiome initial du sol dans le contrôle d'un agent pathogène comme *Fusarium graminearum*. La sensibilité à la fusariose de la variété utilisée et l'inoculum appliqué sur les épis expliquent l'intensité de symptômes observés, et le fait que tous les épis aient atteint le score maximal de symptômes. Or, ces conditions ne reflètent ni la sensibilité des variétés utilisées par les agriculteurs, ni l'inoculum auquel la plante est exposée en conditions de culture. De plus, l'inhibition des symptômes du fait de l'ISR ou de la phytostimulation n'est probablement pas assez forte pour être observée face à une telle pression du pathogène. Afin d'observer une protection conférée par la communauté microbienne dans une expérimentation similaire, il est possible qu'il faille (1) utiliser une variété moins sensible, (2) utiliser une souche de *Fusarium graminearum* moins agressive ou (3) réduire l'inoculum et/ou modifier son mode d'administration. Enfin, dans notre dispositif, la plante et son microbiome n'ont été exposés

au pathogène qu'à un stade tardif de développement. En conditions réelles, le pathogène est confronté en amont au microbiome du sol, et la plante recrute son microbiome en fonction de stress biotiques tout au long de son développement (Bulgarelli et al., 2013; Cantó et al., 2020).

En outre, la diminution des symptômes peut également résulter de l'action du microbiote de l'épi, lui-même partiellement lié à celui du sol, comme décrit par Chen et al. (2018). L'analyse comparée des microbiomes de la graine à la phyllosphère en passant par les racines, et ce en condition d'infection ou non, devrait permettre de discriminer les contributions respectives de ces différents compartiments au contrôle d'un agent pathogène comme *F. graminearum*.

Nos résultats montrent une absence de lien entre pouvoir fongistatique des sols et intensité des symptômes. En plus des limites du dispositif, cela s'explique par le fait que ce sont des mécanismes différents, qui ont lieu à des stades distincts du cycle de l'agent pathogène. Dans une expérience utilisant la même souche de *F. graminearum* (MDC\_Fg1), Besset-Manzoni et al. (2019) avaient montré que les bactéries présentant le plus fort rôle protecteur pour le blé contre l'infection par *F. graminearum* n'étaient pas celles présentant le plus fort potentiel de fongistase. De même, Dal Bello et al. (2002) n'ont pas trouvé de lien significatif entre inhibition *in vitro* et *in planta* de *F. graminearum* lors de l'analyse de 52 souches bactériennes et fongiques isolées du sol de parcelles de blé et de maïs.

En conclusion, pour identifier le rôle des communautés microbiennes naturelles du sol dans la réduction des symptômes *in planta*, il est nécessaire de connaître (1) le rôle du filtre exercé par la plante dans le microbiome du sol, et la composition des microbiomes racinaire et rhizosphérique qui en résulte (2) la composition du microbiome de la phyllosphère, en interaction avec les pathogènes qui s'attaquent aux parties aériennes des plantes.

## Récapitulatif n°5

Dans ce chapitre, nous avons vu que l'abondance de plusieurs genres bactériens, faisant partie des genres majoritaires ou des genres antagonistes de *F. graminearum*, était positivement corrélée avec les symptômes de fusariose de l'épi d'une variété sensible en conditions contrôlées. Nous n'avons pas observé de lien entre fongistase et réduction des symptômes au niveau des épis de blé. Cependant, notre dispositif était limité et ces résultats sont préliminaires. Une étude plus approfondie sera nécessaire pour confirmer les résultats obtenus, et aller plus loin dans l'identification du ou des mécanismes impliqués.

Dans ce dernier chapitre, un bilan global des résultats sera dressé, pour ensuite émettre une conclusion sur les objectifs et les apports du projet. Des perspectives de recherche seront proposées.

## Chapitre 6 : Discussion générale - Conclusion et perspectives

Les microbiomes du sol et des plantes cultivées ont fait l'objet d'un effort de recherche considérable ces dernières années, porté notamment par l'intérêt grandissant pour les bénéfices liés aux services écosystémiques (Banerjee and van der Heijden, 2023; Bertola et al., 2021; Ikeda-Ohtsubo et al., 2018). Parmi les approches mobilisant ces services, le biocontrôle par conservation propose la mobilisation des communautés microbiennes autochtones par les pratiques agricoles pour limiter l'impact des bioagresseurs (Alabouvette et al., 2006; Eilenberg et al., 2001; Karlsson et al., 2021). Ce projet de thèse avait pour objectif principal d'explorer les modalités d'utilisation de ce biocontrôle par conservation, avec comme modèle la fusariose du blé. Les expérimentations réalisées au cours de ce projet de thèse ont été structurées autour de deux questions scientifiques complémentaires : Quels facteurs déterminent le caractère suppressif des sols vis-à-vis de l'agent pathogène *Fusarium graminearum* ? Quelle influence l'environnement exerce-t-il sur l'assemblage du microbiome du sol et du blé ?

Dans cette optique, nous avons choisi de prélever des échantillons de sol et des parties souterraines de blé dans des parcelles d'agriculteurs de la plaine de Limagne. Une des originalités de ce projet réside dans la mobilisation d'un réseau d'une centaine de parcelles de blé, représentatives de la diversité des types de sols de la plaine de Limagne et de la diversité des pratiques dans ce territoire. Ce dispositif à grande échelle nous a permis d'observer une grande diversité d'inhibition de l'agent pathogène parmi les sols étudiés.

### Origine de la fongistase des sols envers *F. graminearum*

Pour toutes les parcelles étudiées, les itinéraires techniques, les caractéristiques physico-chimiques et l'identification des communautés bactériennes des sols ont été croisés avec des tests d'inhibition de la croissance d'un agent pathogène, *Fusarium graminearum*. Les objectifs recherchés étaient : (1) d'évaluer la variabilité du pouvoir suppressif entre les sols, (2) d'identifier les facteurs à l'origine de ces différences de suppressivité des sols et (3) de déterminer l'impact des pratiques sur la composition ou l'activité du microbiome.

Tout d'abord, nous avons pu obtenir une gamme de variation de pouvoir fongistatique, et identifier des sols qui présentaient une inhibition quasi-totale du développement de *F. graminearum* en conditions contrôlées. Nous avons ensuite mis en évidence que les sols les plus sableux et acides avaient le plus fort potentiel à limiter la croissance *in vitro* de l'agent pathogène (chapitre 2). Dans un second temps, nous avons mis en évidence l'existence d'une corrélation positive entre la richesse

taxonomique et l'importance de l'effet fongistase. Enfin, nous avons pu identifier un lien entre système de culture et composition microbienne des sols de réserve, mais sans impact sur la fongistase (chapitre 3).

Le rôle de la diversité microbienne dans l'effet fongistase a déjà été rapporté pour *F. graminearum* (Legrand et al., 2019). Ici, la diversité dans les sols sableux était légèrement plus élevée, bien que de manière non significative. Les milieux sableux, plus oligotrophes, pourraient favoriser la diversité en empêchant les microorganismes copiotrophes de dominer la communauté.

Dans notre échantillon, le système de culture n'avait d'impact ni sur la diversité ni sur la fongistase. La mise en lumière de l'influence des caractéristiques pérennes comme facteur principal déterminant la fongistase suggère que celle-ci pourrait ne pas être modulable. Il existe cependant des pratiques qui ont été identifiées comme augmentant la diversité dans les sols (Esmailzadeh-Salestani et al., 2021; Hartmann, M., Frey, B., Mayer, J. et al., 2015; Lupwayi et al., 1998), et qui pourraient donc être explorées davantage sur des sols peu fongistatiques pour améliorer leur potentiel. Dans une expérimentation mesurant la fongistase sur quatre agents pathogènes avec ajout de matière organique, Bonanomi et al. (2017) concluent que ce sont probablement les augmentations de biomasse et d'activité microbiennes qui favorisent la fongistase. Ces indicateurs n'ont pas été mesurés dans notre étude, mais seraient nécessaires pour comprendre les mécanismes de la fongistase envers *F. graminearum*.

En résumé, la fongistase dépendait des caractéristiques pérennes du sol, et nous avons pu établir son lien avec la diversité de la communauté microbienne du sol. Bien que la fongistase n'était pas liée aux systèmes de culture, nous avons observé un effet de ceux-ci sur la composition du microbiome.

### Assemblage du microbiome souterrain du blé

L'étude de l'assemblage du microbiome du blé nous a permis d'observer les modalités de la transmission du microbiome du sol aux racines du blé (chapitre 4). A travers l'étude de trois compartiments (sol, rhizosphère, racines) nous avons pu mettre en évidence le rôle de la composition initiale du microbiome du sol, de la sélection exercée par la plante, et dans une moindre mesure, l'effet de la variété. Nous avons également mis en évidence un fort effet du système de production sur la constitution du microbiome de la plante. Cet effet pourrait être lié aux différences de variétés dans les différents systèmes de production, ou à la modulation des besoins de la plantes par les apports en nutriments (fertilisation). L'effet du système jusque dans l'assemblage du microbiome rhizosphérique du blé a précédemment été décrit par Hartman et al. (2018). Sur un autre modèle, Chen et al. (2019)

ont notamment observé que les caractéristiques du sol étaient prédominantes dans l'assemblage du microbiome des racines du maïs. Il existe donc une hiérarchie de filtres imposés aux communautés microbiennes du sol à la plante et le système de culture influence chacun de ces filtres.

Ces résultats confirment le potentiel des pratiques à moduler le microbiome dans tous les compartiments du sol aux racines, et l'intérêt d'explorer les interactions microbiennes dans la sélection variétale. Le choix variétal est cependant contraint par d'autres traits qui sont recherchés en priorité (rendement, teneur en protéine du grain...).

### Limites de l'approche

Ces travaux tentent de prendre en compte les conditions réelles de culture, et s'intéressent aux microbiomes présents dans des parcelles agricoles variées. Dans ces conditions, nous avons fait le choix d'obtenir le plus grand nombre possible d'échantillons pour pouvoir identifier des sols possédant des caractères suppressifs variables, et mettre en lumière les phénomènes microbiens qui les expliquent. Bien que les sols sélectionnés représentent des pratiques et des compositions variées, ils restent caractéristiques de ce climat et ce territoire, ce qui limite l'extrapolation des résultats.

L'obtention et l'étude de données de metabarcoding, qui est désormais un standard en écologie microbienne, permet de réaliser un profilage riche des microorganismes cultivables et non-cultivables (Semenov, 2021). Cette technique fait encore l'objet d'innovations tant technologiques que méthodologiques, qui visent à améliorer l'accessibilité, la qualité et la résolution des données produites (Bharti and Grimm, 2021). Cependant il reste une véritable « matière noire microbienne » d'espèces non identifiées (Zha et al., 2022) ainsi qu'un biais de séquençage imputable au choix des amorces. Pour pallier ces limites méthodologiques, il est notamment possible de multiplier les couples d'amorces utilisés (Chesneau et al., 2022). Il subsiste aussi des biais et des difficultés dans l'extraction de l'ADN du sol. En particulier, il peut être discutable d'utiliser un même processus d'extraction pour tous les types de sol, alors que ceux-ci ont des propriétés physico-chimiques différentes, et peuvent donc interagir de façon sélective avec les réactifs utilisés lors de l'extraction (Dequiedt et al., 2011).

Il ne faut pas négliger non plus le fait que les microorganismes présents dans les environnements naturels sont soumis à de fortes variations spatiales et temporelles, et que l'assemblage de ces communautés reste difficile à prédire, ce qui complexifie leur mobilisation (Dumbrell et al., 2010).

Les propriétés fongistatiques d'un sol, intéressantes pour estimer l'inhibition de l'inoculum primaire, ne permettent pas de prédire la survenue d'une maladie dans les parcelles. Celle-ci dépend de nombreux autres facteurs comme l'humidité et la variété de blé (Goswami and Kistler, 2004). Par

ailleurs, la plupart des parcelles (en agriculture conventionnelle et de conservation) ayant été traitées, la quantification des symptômes de fusariose au champ ne nous a pas permis de tirer des conclusions sur l'effet suppressif *in planta* des sols de notre échantillon. Mesurer le rendement des cultures et doser les toxines produites par *F. graminearum* en conditions expérimentales permettrait de valider l'effet final des communautés microbiennes telluriques et racinaires sur la santé de la plante.

Notre dispositif expérimental a apporté une contribution significative à la compréhension de l'influence des facteurs environnementaux sur les services et l'assemblage des microbiomes dans l'agroécosystème, et aux possibilités de les moduler par les pratiques agricoles. Ces premiers résultats doivent être consolidés et généralisés par des expérimentations complémentaires visant, en particulier, à identifier le ou les mécanismes impliqués. L'acquisition de ces données représente une première étape vers la mise en place de stratégies permettant de mobiliser plus efficacement les microbiomes du sol et du blé.

### Perspectives de ce projet

Les environnements telluriques et racinaires sont le théâtre d'interactions riches et variées, dont nous ne connaissons aujourd'hui qu'une infime partie. Pour caractériser de façon plus complète la complexité de ces interactions, il est nécessaire de décrire l'ensemble des composantes de ces communautés naturelles : bactériennes, fongiques, virales, eucaryotes. Certaines études mettent notamment en évidence le rôle important des communautés fongiques du sol dans la suppression (Khatri et al., 2023). Il aurait été intéressant de pouvoir quantifier les différentes espèces de *Fusarium* présentes dans les parcelles prélevées pour observer le lien entre les pratiques, les communautés naturelles et la présence de *Fusarium* dans le sol. Les virus constituent aussi un angle mort de l'étude des communautés microbiennes, de par la difficulté à les isoler ou les séquencer, malgré leur omniprésence et leur rôle dans la régulation de certains microorganismes (Pratama and van Elsas, 2018). Il existe notamment des mycovirus parasites de champignons pathogènes, qui constituent une piste encore peu explorée pour la mise en place de stratégies de lutte (Li et al., 2019; Longkumer and Ahmad, 2020). Le microbiome de la phyllosphère, et plus particulièrement celui de l'épi, pourrait aussi faire l'objet d'une étude pour le rôle qu'il peut jouer via son interaction directe avec le pathogène dans le cas de la fusariose de l'épi (Karlsson et al., 2021, Chen et al, 2018). Enfin, le microbiome de la graine est intéressant pour son rôle d'inoculum initial dans l'assemblage du microbiome de la plante. Bien que son maintien soit limité, il joue également un rôle protecteur et peut favoriser la germination de la graine (Abdelfattah et al., 2021; Chesneau et al., 2022).

Le caractère suppressif d'un sol peut être indépendant de sa composition grâce à la redondance fonctionnelle (Lemanceau et al., 2017; Louca et al., 2018). La caractérisation des communautés



microbiennes devrait donc être couplée à la description de leurs fonctions et à la mesure de leur activité. Cette préconisation est cependant limitée par la difficulté et le coût, par rapport au metabarcoding, des approches de métagénomique, métatranscriptomique ou métaprotéomique. Les techniques continuent néanmoins de progresser et l'étude des communautés environnementales sera probablement encore plus abordable et facilitée à l'avenir. Bien que cette approche soit limitée et plus incertaine, la prédiction fonctionnelle à partir des données obtenues par metabarcoding est envisagée pour la suite du projet.

A l'inverse de ce qui a été réalisé dans ce projet, il serait aussi intéressant d'observer l'effet de l'introduction de l'agent pathogène sur la communauté microbienne, dans le sol et les plantes. Cette approche pourrait permettre d'identifier les microorganismes qui interagissent avec le champignon dans le sol, ou qui sont préférentiellement recrutés par la plante lors de l'infection.

De manière générale, les interactions entre microorganismes, les chaînes trophiques, les co-occurrences et les interdépendances au sein de la communauté demeurent méconnues. Les interactions au sein de la communauté bactérienne (réseaux de co-occurrence) seront notamment explorées dans la suite du projet.

Par ailleurs, il serait possible de tester la fongistase envers d'autres pathogènes d'intérêt, comme *Zyoseptoria tritici* (septoriose) ou *Gaeumannomyces graminis* (piétin-échaudage), pour déterminer si le potentiel fongistatique des sols est général ou spécifique d'un agent pathogène.

Ce phénomène étant variable et multifactoriel, il y a un fort intérêt à réaliser des études à grande échelle, avec un effort d'échantillonnage conséquent. Le choix d'études en conditions réelles avec la participation d'agriculteurs est porteur. En plus de représenter les conditions réelles de culture, ces approches tirent profit des expérimentations naturelles que constituent les parcelles exploitées avec un même système de production sur plusieurs années consécutives. La collecte de données et le suivi des pratiques sont aujourd'hui facilités par les outils informatiques utilisés par les agriculteurs pour consigner leurs interventions. Enfin, cette approche s'inscrit dans une démarche de recherche participative, qui valorise l'implication des agriculteurs, et plus généralement l'intégration d'acteurs citoyens dans la production de connaissance.

## Conclusion

Les effets suppressifs des sols sont étudiés depuis maintenant plus de 40 ans. Ces études étaient autrefois limitées par l'impossibilité d'accéder à l'ensemble de la communauté microbienne. Pour cette raison, elles se sont principalement focalisées sur l'étude de l'impact des caractéristiques physico-chimiques des sols, ou sur celui de souches ou d'espèces microbiennes sélectionnées *a priori* (Kloepper et al., 1980; Lemanceau et al., 1988; Schroth and Hancock, 1982). Les progrès technologiques et méthodologiques réalisés ces deux dernières décennies ont rendu possible l'étude de la composition des communautés microbiennes du sol et de celles associées aux plantes, ouvrant la voie à l'étude de leur capacité à contrôler le développement d'un agent pathogène, dans le sol et *in planta*.

Le contrôle des bioagresseurs par les microorganismes peut être direct, dans le sol de réserve ou dans l'environnement racinaire, ou indirect, par la stimulation des défenses de la plante. Ce service dépend donc de la nature intrinsèque des sols qui constitue un premier filtre de sélection imposé aux microorganismes. Il dépend aussi des pratiques agricoles qui modulent caractéristiques variables du sol, activité du microbiome et recrutement par la plante, et de la plante qui impose une sélection finale du microbiome, comme nous l'avons montré dans nos résultats. L'inhibition directe ne dépendant pas de la plante, elle peut bénéficier à plusieurs types de cultures hôtes du pathogène. Les inhibitions indirecte ou directe dans l'environnement racinaire ont, quant à elles, l'avantage de pouvoir être modulées par le choix des cultures et de la variété, sur différents sols. A l'avenir, il est possible d'imaginer qu'en agriculture de précision, un profil de la vie microbienne de chaque sol pourra être dressé et un diagnostic établi afin de l'optimiser pour la protection des cultures par l'adaptation des pratiques, et que les espèces d'intérêt agronomique seront appréhendées et exploitées comme holobiontes.

Les données obtenues dans le cadre de cette thèse permettent de confirmer l'impact des pratiques agricoles et d'approfondir les connaissances sur un service écosystémique encore partiellement inexpliqué et sous-exploité : le biocontrôle d'un agent pathogène fongique par les communautés microbiennes naturelles du sol. Nous avons validé l'importance du microbiome des sols agricoles, d'une part dans son rôle direct d'inhibition du pathogène, et d'autre part en tant que réservoir de microorganismes avec lesquelles les plantes cultivées interagissent. L'influence des pratiques sur le sol et le recrutement du microbiome de la plante ainsi que les différences de recrutement entre les variétés sont autant de leviers qui peuvent être actionnés et associés pour favoriser le service écosystémique de contrôle de bioagresseurs.



## Références

- Abdelfattah, A., Wisniewski, M., Schena, L., Tack, A.J.M., 2021. Experimental evidence of microbial inheritance in plants and transmission routes from seed to phyllosphere and root. *Environ. Microbiol.* 23, 2199–2214. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15392>
- Abis, L., Loubet, B., Ciuraru, R., Lafouge, F., Houot, S., Nowak, V., Tripied, J., Dequiedt, S., Maron, P.A., Sadet-Bourgeteau, S., 2020. Reduced microbial diversity induces larger volatile organic compound emissions from soils. *Sci. Rep.* 10, 6104. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63091-8>
- Acuña, J.J., Rilling, J.I., Inostroza, N.G., Manquian, J., Zhang, Q., Gupta, V.V.S.R., Jorquera, M.A., 2023. Diversity, Community Structure, and Potential Functions of Root-Associated Bacterial Communities of Different Wheat (*Triticum aestivum*) Cultivars under Field Conditions. *Agronomy* 13, 1392. <https://doi.org/10.3390/agronomy13051392>
- Adedayo, A.A., Babalola, O.O., 2023. Fungi That Promote Plant Growth in the Rhizosphere Boost Crop Growth. *J. Fungi* 9, 239. <https://doi.org/10.3390/jof9020239>
- Adeniji, A.A., Aremu, O.S., Babalola, O.O., 2018. Selecting lipopeptide-producing, *Fusarium*-suppressing *Bacillus* spp.: Metabolomic and genomic probing of *Bacillus velezensis* NWUMFKBS10.5. *MicrobiologyOpen* 8, e00742. <https://doi.org/10.1002/mbo3.742>
- Ahemad, M., Kibret, M., 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *J. King Saud Univ. - Sci.* 26, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>
- Alabouvette, C., 1986. *Fusarium*-wilt suppressive soils from the Châteaurenard region : review of a 10-year study. *Agronomie* 6, 273–284. <https://doi.org/10.1051/agro:19860307>
- Alabouvette, C., Olivain, C., Migheli, Q., Steinberg, C., 2009. Microbiological control of soil-borne phytopathogenic fungi with special emphasis on wilt-inducing *Fusarium oxysporum*. *New Phytol.* 184, 529–544. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03014.x>
- Alabouvette, C., Olivain, C., Steinberg, C., 2006. Biological Control of Plant Diseases: The European Situation. *Eur. J. Plant Pathol.* 114, 329–341. <https://doi.org/10.1007/s10658-005-0233-0>
- Alavi, P., Starcher, M., Zachow, C., Mueller, H., Berg, G., 2013. Root-microbe systems: the effect and mode of interaction of Stress Protecting Agent (SPA) *Stenotrophomonas rhizophila* DSM14405T. *Front. Plant Sci.* 4.
- Alletto, L., Coquet, Y., Roger-Estrade, J., 2010. Two-dimensional spatial variation of soil physical properties in two tillage systems. *Soil Use Manag.* 26, 432–444. <https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2010.00295.x>
- Alouane, T., Rimbart, H., Bormann, J., González-Montiel, G.A., Loesgen, S., Schäfer, W., Freitag, M., Langin, T., Bonhomme, L., 2021. Comparative Genomics of Eight *Fusarium graminearum* Strains with Contrasting Aggressiveness Reveals an Expanded Open Pangenome and Extended Effector Content Signatures. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 6257. <https://doi.org/10.3390/ijms22126257>
- Atelier de calcul - IFT - Indicateur de Fréquence de Traitements phytopharmaceutiques [WWW Document], n.d. URL <https://alim.agriculture.gouv.fr/ift/> (accessed 5.25.22).
- Bais, H.P., Weir, T.L., Perry, L.G., Gilroy, S., Vivanco, J.M., 2006. The Role of Root Exudates in Rhizosphere Interactions with Plants and Other Organisms. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57, 233–266. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159>
- Banerjee, S., van der Heijden, M.G.A., 2023. Soil microbiomes and one health. *Nat. Rev. Microbiol.* 21, 6–20. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00779-w>
- Berendsen, R.L., Pieterse, C.M.J., Bakker, P.A.H.M., 2012. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends Plant Sci.* 17, 478–486. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>
- Berendsen, R.L., Vismans, G., Yu, K., Song, Y., de Jonge, R., Burgman, W.P., Burmølle, M., Herschend, J., Bakker, P.A.H.M., Pieterse, C.M.J., 2018. Disease-induced assemblage of a plant-beneficial bacterial consortium. *ISME J.* 12, 1496–1507. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0093-1>

- Berg, G., Kusstatscher, P., Abdelfattah, A., Cernava, T., Smalla, K., 2021. Microbiome Modulation—Toward a Better Understanding of Plant Microbiome Response to Microbial Inoculants. *Front. Microbiol.* 12.
- Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M.-C.C., Charles, T., Chen, X., Cocolin, L., Eversole, K., Corral, G.H., Kazou, M., Kinkel, L., Lange, L., Lima, N., Loy, A., Macklin, J.A., Maguin, E., Mauchline, T., McClure, R., Mitter, B., Ryan, M., Sarand, I., Smidt, H., Schelkle, B., Roume, H., Kiran, G.S., Selvin, J., Souza, R.S.C. de, van Overbeek, L., Singh, B.K., Wagner, M., Walsh, A., Sessitsch, A., Schloter, M., 2020. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome* 8, 103. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>
- Berg, G., Smalla, K., 2009. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microbiol. Ecol.* 68, 1–13. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00654.x>
- Bertola, M., Ferrarini, A., Visioli, G., 2021. Improvement of Soil Microbial Diversity through Sustainable Agricultural Practices and Its Evaluation by -Omics Approaches: A Perspective for the Environment, Food Quality and Human Safety. *Microorganisms* 9, 1400. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071400>
- Besset-Manzoni, Y., Joly, P., Brutel, A., Gerin, F., Soudière, O., Langin, T., Prigent-Combaret, C., 2019. Does in vitro selection of biocontrol agents guarantee success in planta? A study case of wheat protection against *Fusarium* seedling blight by soil bacteria. *PLOS ONE* 14, e0225655. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225655>
- Bharti, R., Grimm, D.G., 2021. Current challenges and best-practice protocols for microbiome analysis. *Brief. Bioinform.* 22, 178–193. <https://doi.org/10.1093/bib/bbz155>
- Boer, W.D., Gunnewiek, P.J. a. K., Woldendorp, J.W., 1998. Suppression of hyphal growth of soil-borne fungi by dune soils from vigorous and declining stands of *Ammophila arenaria*. *New Phytol.* 107–116.
- Bonomi, G., GAGLIONE, S., Cesarano, G., Sarker, T.C., PASCALE, M., Scala, F., Zoina, A., 2017. Frequent Applications of Organic Matter to Agricultural Soil Increase Fungistasis. *Pedosphere* 27, 86–95. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(17\)60298-4](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(17)60298-4)
- Borrero, C., Trillas, M.I., Ordovás, J., Tello, J.C., Avilés, M., 2004. Predictive Factors for the Suppression of *Fusarium* Wilt of Tomato in Plant Growth Media. *Phytopathology*® 94, 1094–1101. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.10.1094>
- Bulgarelli, D., Schlaeppi, K., Spaepen, S., van Themaat, E.V.L., Schulze-Lefert, P., 2013. Structure and Functions of the Bacterial Microbiota of Plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 807–838. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120106>
- Busby, P.E., Soman, C., Wagner, M.R., Friesen, M.L., Kremer, J., Bennett, A., Morsy, M., Eisen, J.A., Leach, J.E., Dangl, J.L., 2017. Research priorities for harnessing plant microbiomes in sustainable agriculture. *PLOS Biol.* 15, e2001793. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2001793>
- Butault, J., Delame, N., Jacquet, F., Zardet, G., 2011. L'utilisation des pesticides en France : état des lieux et perspectives de réduction.
- Callahan, B.J., Wong, J., Heiner, C., Oh, S., Theriot, C.M., Gulati, A.S., McGill, S.K., Dougherty, M.K., 2019. High-throughput amplicon sequencing of the full-length 16S rRNA gene with single-nucleotide resolution. *Nucleic Acids Res.* 47, e103. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz569>
- Cantó, C. de la F., Simonin, M., King, E., Moulin, L., Bennett, M.J., Castrillo, G., Laplaze, L., 2020. An extended root phenotype: the rhizosphere, its formation and impacts on plant fitness. *Plant J.* 103, 951–964. <https://doi.org/10.1111/tpj.14781>
- CASIDA, L.E., 1982. *Ensifer adhaerens* gen. nov., sp. nov.: A Bacterial Predator of Bacteria in Soil†. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 32, 339–345. <https://doi.org/10.1099/00207713-32-3-339>
- Cha, J.-Y., Han, S., Hong, H.-J., Cho, H., Kim, D., Kwon, Y., Kwon, S.-K., Crüsemann, M., Bok Lee, Y., Kim, J.F., Giaeffer, G., Nislow, C., Moore, B.S., Thomashow, L.S., Weller, D.M., Kwak, Y.-S., 2016. Microbial and biochemical basis of a *Fusarium* wilt-suppressive soil. *ISME J.* 10, 119–129. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.95>

- Chen, L., Heng, J., Qin, S., Bian, K., 2018. A comprehensive understanding of the biocontrol potential of *Bacillus velezensis* LM2303 against *Fusarium* head blight. *PloS One* 13, e0198560. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198560>
- Chen, L., Xin, X., Zhang, J., Redmile-gordon, M., Nie, G., Wang, Q., 2019. Soil Characteristics Overwhelm Cultivar Effects on the Structure and Assembly of Root-Associated Microbiomes of Modern Maize. *Pedosphere* 29, 360–373. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(17\)60370-9](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(17)60370-9)
- Chen, Y., Wang, J., Yang, N., Wen, Z., Sun, X., Chai, Y., Ma, Z., 2018. Wheat microbiome bacteria can reduce virulence of a plant pathogenic fungus by altering histone acetylation. *Nat. Commun.* 9, 3429. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05683-7>
- Chesneau, G., Laroche, B., Prévieux, A., Marais, C., Briand, M., Marolleau, B., Simonin, M., Barret, M., 2022. Single Seed Microbiota: Assembly and Transmission from Parent Plant to Seedling. *mBio* 13, e01648-22. <https://doi.org/10.1128/mbio.01648-22>
- Christel, A., Maron, P.-A., Ranjard, L., 2021. Impact of farming systems on soil ecological quality: a meta-analysis. *Environ. Chem. Lett.* 19, 4603–4625. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01302-y>
- Collazo, C., Abadias, M., Aguiló-Aguayo, I., Alegre, I., Chenoll, E., Viñas, I., 2017. Studies on the biocontrol mechanisms of *Pseudomonas graminis* strain CPA-7 against food-borne pathogens in vitro and on fresh-cut melon. *LWT - Food Sci. Technol., Fruit & Veg Processing* 2016 – towards sustainability 85, 301–308. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.02.029>
- Colombo, E.M., Kunova, A., Pizzatti, C., Saracchi, M., Cortesi, P., Pasquali, M., 2019. Selection of an Endophytic *Streptomyces* sp. Strain DEF09 From Wheat Roots as a Biocontrol Agent Against *Fusarium graminearum*. *Front. Microbiol.* 10.
- Compant, S., Nowak, J., Coenye, T., Clément, C., Ait Barka, E., 2008. Diversity and occurrence of *Burkholderia* spp. in the natural environment. *FEMS Microbiol. Rev.* 32, 607–626. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00113.x>
- Constancias, F., Terrat, S., Saby, N.P.A., Horigue, W., Villerd, J., Guillemin, J.-P., Biju-Duval, L., Nowak, V., Dequiedt, S., Ranjard, L., Prévost-Bouré, N.C., 2015. Mapping and determinism of soil microbial community distribution across an agricultural landscape. *MicrobiologyOpen* 4, 505–517. <https://doi.org/10.1002/mbo3.255>
- Dal Bello, G.M., Mónaco, C.I., Simón, M.R., 2002. Biological control of seedling blight of wheat caused by *Fusarium graminearum* with beneficial rhizosphere microorganisms. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 18, 627–636. <https://doi.org/10.1023/A:1016898020810>
- Dal Cortivo, C., Ferrari, M., Visioli, G., Lauro, M., Fornasier, F., Barion, G., Panozzo, A., Vamerali, T., 2020. Effects of Seed-Applied Biofertilizers on Rhizosphere Biodiversity and Growth of Common Wheat (*Triticum aestivum* L.) in the Field. *Front. Plant Sci.* 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00072>
- De Corato, U., Patruno, L., Avella, N., Salimbeni, R., Lacolla, G., Cucci, G., Crecchio, C., 2020. Soil management under tomato-wheat rotation increases the suppressive response against *Fusarium* wilt and tomato shoot growth by changing the microbial composition and chemical parameters. *Appl. Soil Ecol.* 154, 103601. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103601>
- de Boer, W., Li, X., Meisner, A., Garbeva, P., 2019. Pathogen suppression by microbial volatile organic compounds in soils. *FEMS Microbiol. Ecol.* 95, fiz105. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiz105>
- Delitte, M., Caulier, S., Bragard, C., Desoignies, N., 2021. Plant Microbiota Beyond Farming Practices: A Review. *Front. Sustain. Food Syst.* 5.
- Depoorter, E., Bull, M.J., Peeters, C., Coenye, T., Vandamme, P., Mahenthiralingam, E., 2016. *Burkholderia*: an update on taxonomy and biotechnological potential as antibiotic producers. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100, 5215–5229. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7520-x>
- Dequiedt, S., Saby, N.P.A., Lelievre, M., Jolivet, C., Thioulouse, J., Toutain, B., Arrouays, D., Bispo, A., Lemanceau, P., Ranjard, L., 2011. Biogeographical patterns of soil molecular microbial biomass as influenced by soil characteristics and management. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 20, 641–652. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2010.00628.x>

- Dumbrell, A.J., Nelson, M., Helgason, T., Dytham, C., Fitter, A.H., 2010. Relative roles of niche and neutral processes in structuring a soil microbial community. *ISME J.* 4, 337–345. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.122>
- Eberl, L., Vandamme, P., 2016. Members of the genus *Burkholderia*: good and bad guys. *F1000Research* 5, F1000 Faculty Rev-1007. <https://doi.org/10.12688/f1000research.8221.1>
- Eilenberg, J., Hajek, A., Lomer, C., 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *BioControl* 46, 387–400. <https://doi.org/10.1023/A:1014193329979>
- Esmailzadeh-Salestani, K., Bahram, M., Ghanbari Moheb Seraj, R., Gohar, D., Tohidfar, M., Eremeev, V., Talgre, L., Khaleghdoust, B., Mirmajlessi, S.M., Luik, A., Loit, E., 2021. Cropping systems with higher organic carbon promote soil microbial diversity. *Agric. Ecosyst. Environ.* 319, 107521. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107521>
- Fabre, F., Bormann, J., Urbach, S., Roche, S., Langin, T., Bonhomme, L., 2019. Unbalanced Roles of Fungal Aggressiveness and Host Cultivars in the Establishment of the Fusarium Head Blight in Bread Wheat. *Front. Microbiol.* 10, 2857. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02857>
- Fan, K., Cardona, C., Li, Y., Shi, Y., Xiang, X., Shen, C., Wang, H., Gilbert, J.A., Chu, H., 2017. Rhizosphere-associated bacterial network structure and spatial distribution differ significantly from bulk soil in wheat crop fields. *Soil Biol. Biochem.* 113, 275–284. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.06.020>
- FAO, 2020. Biodiversity for food and agriculture and ecosystem services. FAO. <https://doi.org/10.4060/cb0649en>
- Garbeva, P., Hol, W.H.G., Termorshuizen, A.J., Kowalchuk, G.A., de Boer, W., 2011. Fungistasis and general soil biostasis – A new synthesis. *Soil Biol. Biochem.* 43, 469–477. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.11.020>
- Garbeva, P., van Veen, J.A., van Elsas, J.D., 2004. MICROBIAL DIVERSITY IN SOIL: Selection of Microbial Populations by Plant and Soil Type and Implications for Disease Suppressiveness. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42, 243–270. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.012604.135455>
- Gdanetz, K., Trail, F., 2017. The Wheat Microbiome Under Four Management Strategies, and Potential for Endophytes in Disease Protection. *Phytobiomes J.* 1, 158–168. <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-05-17-0023-R>
- Geisseler, D., Scow, K.M., 2014. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms – A review. *Soil Biol. Biochem.* 75, 54–63. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.03.023>
- Goeb, J., Dillon, A., Lupi, F., Tschirley, D., 2020. Pesticides: What You Don't Know Can Hurt You. *J. Assoc. Environ. Resour. Econ.* 7, 801–836. <https://doi.org/10.1086/709782>
- Gómez Expósito, R., de Bruijn, I., Postma, J., Raaijmakers, J.M., 2017. Current Insights into the Role of Rhizosphere Bacteria in Disease Suppressive Soils. *Front. Microbiol.* 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02529>
- Goswami, R.S., Kistler, H.C., 2004. Heading for disaster: *Fusarium graminearum* on cereal crops. *Mol. Plant Pathol.* 5, 515–525. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2004.00252.x>
- Grady, E.N., MacDonald, J., Liu, L., Richman, A., Yuan, Z.-C., 2016. Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: a review. *Microb. Cell Factories* 15, 203. <https://doi.org/10.1186/s12934-016-0603-7>
- Gyaneshwar, P., Naresh Kumar, G., Parekh, L.J., Poole, P.S., 2002. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant Soil* 245, 83–93. <https://doi.org/10.1023/A:1020663916259>
- Haddaway, N.R., Hedlund, K., Jackson, L.E., Kätterer, T., Lugato, E., Thomsen, I.K., Jørgensen, H.B., Isberg, P.-E., 2017. How does tillage intensity affect soil organic carbon? A systematic review. *Environ. Evid.* 6, 30. <https://doi.org/10.1186/s13750-017-0108-9>
- Haines-Young, R., Potschin, M., 2009. Methodologies for defining and assessing ecosystem services.
- Hartman, K., Heijden, M.G.A. van der, Wittwer, R.A., Banerjee, S., Walser, J.-C., Schlaeppli, K., 2018. Cropping practices manipulate abundance patterns of root and soil microbiome members paving the way to smart farming. *Microbiome* 6, 1–14. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0389-9>

- Hartman, K., Tringe, S.G., 2019. Interactions between plants and soil shaping the root microbiome under abiotic stress. *Biochem. J.* 476, 2705–2724. <https://doi.org/10.1042/BCJ20180615>
- Hartmann, M., Frey, B., Mayer, J. et al., 2015. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming | The ISME Journal [WWW Document]. URL <https://www.nature.com/articles/ismej2014210> (accessed 1.1.21).
- Hayden, H.L., Savin, K.W., Wadeson, J., Gupta, V.V.S.R., Mele, P.M., 2018. Comparative Metatranscriptomics of Wheat Rhizosphere Microbiomes in Disease Suppressive and Non-suppressive Soils for *Rhizoctonia solani* AG8. *Front. Microbiol.* 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00859>
- He, J., Boland, G.J., Zhou, T., 2009. Concurrent selection for microbial suppression of *Fusarium graminearum*, *Fusarium head blight* and deoxynivalenol in wheat. *J. Appl. Microbiol.* 106, 1805–1817. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04147.x>
- Hetrick, B.A.D., Wilson, G.W.T., Cox, T.S., 2011. Mycorrhizal dependence of modern wheat cultivars and ancestors: a synthesis. *Can. J. Bot.* <https://doi.org/10.1139/b93-056>
- Hol, W.H.G., Garbeva, P., Hordijk, C., Hundscheid, M.P.J., Gunnewiek, P.J.A.K., van Agtmaal, M., Kuramae, E.E., de Boer, W., 2015. Non-random species loss in bacterial communities reduces antifungal volatile production. *Ecology* 96, 2042–2048. <https://doi.org/10.1890/14-2359.1>
- Ikeda-Ohtsubo, W., Brugman, S., Warden, C.H., Rebel, J.M.J., Folkerts, G., Pieterse, C.M.J., 2018. How Can We Define “Optimal Microbiota?”: A Comparative Review of Structure and Functions of Microbiota of Animals, Fish, and Plants in Agriculture. *Front. Nutr.* 5.
- Islam, Md.R., Singh, B., Dijkstra, F.A., 2022. Stabilisation of soil organic matter: interactions between clay and microbes. *Biogeochemistry* 160, 145–158. <https://doi.org/10.1007/s10533-022-00956-2>
- Jacobsen, B.J., 2014. Use of *Bacillus mycoides* isolate J induced resistance in IPM programs. Presented at the Oral Technical Session: Disease Control and Pest Management, Minneapolis, Minnesota.
- Jacquet, F., Jeuffroy, M.-H., Jouan, J., Le Cadre, E., Litrico, I., Malausa, T., Reboud, X., Huyghe, C., 2022a. Pesticide-free agriculture as a new paradigm for research. *Agron. Sustain. Dev.* 42, 8. <https://doi.org/10.1007/s13593-021-00742-8>
- Jacquet, F., Jeuffroy, M.-H., Jouan, J., Le Cadre, E., Malausa, T., Reboud, X., Huyghe, C. (Eds.), 2022b. Zéro pesticide: Un nouveau paradigme de recherche pour une agriculture durable. éditions Quae. <https://doi.org/10.35690/978-2-7592-3311-3>
- Jiang, D., Armour, C.R., Hu, C., Mei, M., Tian, C., Sharpton, T.J., Jiang, Y., 2019. Microbiome Multi-Omics Network Analysis: Statistical Considerations, Limitations, and Opportunities. *Front. Genet.* 10.
- Jørgensen, L.N., 1999. Denmark's action plan for pesticides - status and role of research, in: *Nordic Agricultural Research*. pp. 197–203.
- Karimi, B., Chemidlin Prevost-Boure, N., Dequiedt, S., Terrat, S., Ranjard, L., 2018a. Atlas français des Bactéries du sol.
- Karimi, B., Terrat, S., Dequiedt, S., Saby, N.P.A., Horrigue, W., Lelièvre, M., Nowak, V., Jolivet, C., Arrouays, D., Wincker, P., Cruaud, C., Bispo, A., Maron, P.-A., Bouré, N.C.P., Ranjard, L., 2018b. Biogeography of soil bacteria and archaea across France. *Sci. Adv.* 4, eaat1808. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aat1808>
- Karlsson, I., Persson, P., Friberg, H., 2021. *Fusarium* Head Blight From a Microbiome Perspective. *Front. Microbiol.* 12.
- Kaur, H., Vilvert, E., Gutiérrez, M.Á.C., Zhan, J., Douchkov, D., Desiderio, F., Vélèz, H., Bourras, S., 2024. Survey of the wheat mycobiome associated with leaf blotch and head blight diseases in Sweden. <https://doi.org/10.1101/2024.01.09.574850>
- Kavamura, V.N., Hayat, R., Clark, I.M., Rossmann, M., Mendes, R., Hirsch, P.R., Mauchline, T.H., 2018. Inorganic Nitrogen Application Affects Both Taxonomical and Predicted Functional Structure of Wheat Rhizosphere Bacterial Communities. *Front. Microbiol.* 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01074>
- Kavamura, V.N., Robinson, R.J., Hayat, R., Clark, I.M., Hughes, D., Rossmann, M., Hirsch, P.R., Mendes, R., Mauchline, T.H., 2019. Land Management and Microbial Seed Load Effect on Rhizosphere



- and Endosphere Bacterial Community Assembly in Wheat. *Front. Microbiol.* 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02625>
- Khatri, S., Chaudhary, P., Shivay, Y.S., Sharma, S., 2023. Role of Fungi in Imparting General Disease Suppressiveness in Soil from Organic Field. *Microb. Ecol.* 86, 2047–2059. <https://doi.org/10.1007/s00248-023-02211-z>
- Kim, Y.-T., Monkhung, S., Lee, Y.S., Kim, K.Y., 2019. Effects of *Lysobacter antibioticus* HS124, an effective biocontrol agent against *Fusarium graminearum*, on crown rot disease and growth promotion of wheat. *Can. J. Microbiol.* 65, 904–912. <https://doi.org/10.1139/cjm-2019-0285>
- Kloepper, J.W., Leong, J., Teintze, M., Schroth, M.N., 1980. *Pseudomonas* siderophores: A mechanism explaining disease-suppressive soils. *Curr. Microbiol.* 4, 317–320. <https://doi.org/10.1007/BF02602840>
- Kumar, U., Raj, S., Sreenikethanam, A., Maddheshiya, R., Kumari, S., Han, S., Kapoor, K.K., Bhaskar, R., Bajhaiya, A.K., Gahlot, D.K., 2023. Multi-Omics Approaches in Plant–Microbe Interactions Hold Enormous Promise for Sustainable Agriculture. *Agronomy* 13, 1804. <https://doi.org/10.3390/agronomy13071804>
- Kuramae, E.E., Yergeau, E., Wong, L.C., Pijl, A.S., van Veen, J.A., Kowalchuk, G.A., 2012. Soil characteristics more strongly influence soil bacterial communities than land-use type. *FEMS Microbiol. Ecol.* 79, 12–24. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01192.x>
- Kuzyakov, Y., Domanski, G., 2000. Carbon input by plants into the soil. *Review. J. Plant Nutr. Soil Sci.* 163, 421–431. [https://doi.org/10.1002/1522-2624\(200008\)163:4<421::AID-JPLN421>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/1522-2624(200008)163:4<421::AID-JPLN421>3.0.CO;2-R)
- Kyselková, M., Moëne-Loccoz, Y., 2012. *Pseudomonas* and other Microbes in Disease-Suppressive Soils, in: Lichtfouse, E. (Ed.), *Organic Fertilisation, Soil Quality and Human Health, Sustainable Agriculture Reviews*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 93–140. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-4113-3\\_5](https://doi.org/10.1007/978-94-007-4113-3_5)
- La Scola, B., 2015. Nouvelle technique d'étude du microbiote : la culturomique. *Rev. Francoph. Lab., Microbiote humain* 2015, 83–87. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(15\)72825-X](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(15)72825-X)
- Lauber, C.L., Strickland, M.S., Bradford, M.A., Fierer, N., 2008. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biol. Biochem., Special Section: Enzymes in the Environment* 40, 2407–2415. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.05.021>
- Legrand, F., Chen, W., Cobo-Díaz, J.F., Picot, A., Floch, G.L., 2019. Co-occurrence analysis reveal that biotic and abiotic factors influence soil fungistasis against *Fusarium graminearum*. *FEMS Microbiol. Ecol.* 95. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiz056>
- Lemanceau, P., Alabouvette, C., Couteaudier, Y., 1988. Recherches sur la résistance des sols aux maladies. XIV. Modification du niveau de réceptivité d'un sol résistant et d'un sol sensible aux fusarioses vasculaires en réponse à des apports de fer ou de glucose. *Agronomie* 8, 155–162. <https://doi.org/10.1051/agro:19880209>
- Lemanceau, P., Blouin, M., Muller, D., Moëne-Loccoz, Y., 2017. Let the Core Microbiota Be Functional. *Trends Plant Sci.* 22, 583–595. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.04.008>
- Lemanceau, P., Maron, P.-A., Mazurier, S., Mougel, C., Pivato, B., Plassart, P., Ranjard, L., Revellin, C., Tardy, V., Wipf, D., 2015. Understanding and managing soil biodiversity: a major challenge in agroecology. *Agron. Sustain. Dev.* 35, 67–81. <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0247-0>
- Leplat, J., Friberg, H., Abid, M., Steinberg, C., 2013. Survival of *Fusarium graminearum*, the causal agent of *Fusarium* head blight. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 33, 97–111. <https://doi.org/10.1007/s13593-012-0098-5>
- Li, D., Rothballer, M., Schmid, M., Esperschütz, J., Hartmann, A., 2011. *Acidovorax radialis* sp. nov., a wheat-root-colonizing bacterium. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 61, 2589–2594. <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.025296-0>
- Li, P., Bhattacharjee, P., Wang, S., Zhang, L., Ahmed, I., Guo, L., 2019. Mycoviruses in *Fusarium* Species: An Update. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 9. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00257>

- Li, Z., Ma, L., Zhang, Y., Zhao, W., Zhao, B., Zhang, J., 2020. Effect of wheat cultivars with different resistance to *Fusarium* head blight on rhizosphere *Fusarium graminearum* abundance and microbial community composition. *Plant Soil* 448, 383–397. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04441-3>
- Lisboa, B.B., Bayer, C., Passaglia, L.M.P., Camargo, F.A. de O., Beneduzi, A., Ambrosini, A., Vargas, L.K., Lisboa, B.B., Bayer, C., Passaglia, L.M.P., Camargo, F.A. de O., Beneduzi, A., Ambrosini, A., Vargas, L.K., 2015. SOIL FUNGISTASIS AGAINST *FUSARIUM GRAMINEARUM* UNDER DIFFERENT CROP MANAGEMENT SYSTEMS. *Rev. Bras. Ciênc. Solo* 39, 69–77. <https://doi.org/10.1590/01000683rbc20150683>
- Liu, H., Li, J., Carvalhais, L.C., Percy, C.D., Prakash Verma, J., Schenk, P.M., Singh, B.K., 2021. Evidence for the plant recruitment of beneficial microbes to suppress soil-borne pathogens. *New Phytol.* 229, 2873–2885. <https://doi.org/10.1111/nph.17057>
- Liu, W., Ling, N., Guo, J., Ruan, Y., Zhu, C., Shen, Q., Guo, S., 2020. Legacy effects of 8-year nitrogen inputs on bacterial assemblage in wheat rhizosphere. *Biol. Fertil. Soils* 56, 583–596. <https://doi.org/10.1007/s00374-020-01435-2>
- Löbmann, M.T., Vetukuri, R.R., de Zinger, L., Alsanus, B.W., Grenville-Briggs, L.J., Walter, A.J., 2016. The occurrence of pathogen suppressive soils in Sweden in relation to soil biota, soil properties, and farming practices. *Appl. Soil Ecol.* 107, 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.05.011>
- Longkumer, I.Y., Ahmad, M.A., 2020. Potential of Mycovirus in the Biological Control of Fungal Plant Pathogens: A Review. *Agric. Rev.* 41, 238–247. <https://doi.org/10.18805/ag.R-1896>
- Lori, M., Symnaczyk, S., Mäder, P., Deyn, G.D., Gattinger, A., 2017. Organic farming enhances soil microbial abundance and activity—A meta-analysis and meta-regression. *PLOS ONE* 12, e0180442. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180442>
- Louca, S., Polz, M.F., Mazel, F., Albright, M.B.N., Huber, J.A., O'Connor, M.I., Ackermann, M., Hahn, A.S., Srivastava, D.S., Crowe, S.A., Doebeli, M., Parfrey, L.W., 2018. Function and functional redundancy in microbial systems. *Nat. Ecol. Evol.* 2, 936–943. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0519-1>
- Lucas, J.A., Hawkins, N.J., Fraaije, B.A., 2015. Chapter Two - The Evolution of Fungicide Resistance, in: Sariaslani, S., Gadd, G.M. (Eds.), *Advances in Applied Microbiology*. Academic Press, pp. 29–92. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2014.09.001>
- Lugtenberg, B., Kamilova, F., 2009. Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 63, 541–556. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162918>
- Lupwayi, N.Z., Rice, W.A., Clayton, G.W., 1998. Soil microbial diversity and community structure under wheat as influenced by tillage and crop rotation. *Soil Biol. Biochem.* 30, 1733–1741. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(98\)00025-X](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(98)00025-X)
- Mahoney, A.K., Yin, C., Hulbert, S.H., 2017. Community Structure, Species Variation, and Potential Functions of Rhizosphere-Associated Bacteria of Different Winter Wheat (*Triticum aestivum*) Cultivars. *Front. Plant Sci.* 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00132>
- Mavrodi, D.V., Mavrodi, O.V., Elbourne, L.D.H., Tetu, S., Bonsall, R.F., Parejko, J., Yang, M., Paulsen, I.T., Weller, D.M., Thomashow, L.S., 2018. Long-Term Irrigation Affects the Dynamics and Activity of the Wheat Rhizosphere Microbiome. *Front. Plant Sci.* 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00345>
- Mendes, R., Kruijt, M., Bruijn, I. de, Dekkers, E., Voort, M. van der, Schneider, J.H.M., Piceno, Y.M., DeSantis, T.Z., Andersen, G.L., Bakker, P.A.H.M., Raaijmakers, J.M., 2011. Deciphering the Rhizosphere Microbiome for Disease-Suppressive Bacteria. *Science* 332, 1097–1100. <https://doi.org/10.1126/science.1203980>
- Mhete, M., Eze, P.N., Rahube, T.O., Akinyemi, F.O., 2020. Soil properties influence bacterial abundance and diversity under different land-use regimes in semi-arid environments. *Sci. Afr.* 7, e00246. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00246>

- Ministère de l'Agriculture et de la Souveraineté alimentaire, n.d. Le plan Écophyto, qu'est-ce que c'est ? [WWW Document]. Ministère Agric. Souveraineté Aliment. URL <https://agriculture.gouv.fr/le-plan-ecophyto-quest-ce-que-cest> (accessed 1.30.24).
- Munoz-Ucros, J., Zwetsloot, M.J., Cuellar-Gempeler, C., Bauerle, T.L., 2021. Spatiotemporal patterns of rhizosphere microbiome assembly: From ecological theory to agricultural application. *J. Appl. Ecol.* 58, 894–904. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13850>
- Naveed, M., Herath, L., Moldrup, P., Arthur, E., Nicolaisen, M., Norgaard, T., Ferré, T.P.A., de Jonge, L.W., 2016. Spatial variability of microbial richness and diversity and relationships with soil organic carbon, texture and structure across an agricultural field. *Appl. Soil Ecol.* 103, 44–55. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.03.004>
- Nowak, B., Marliac, G., 2020. Optimization of carbon stock models to local conditions using farmers' soil tests: A case study with AMGv2 for a cereal plain in central France. *Soil Use Manag.* 36, 633–645. <https://doi.org/10.1111/sum.12608>
- Ossowicki, A., Tracanna, V., Petrus, M.L.C., van Wezel, G., Raaijmakers, J.M., Medema, M.H., Garbeva, P., 2020. Microbial and volatile profiling of soils suppressive to *Fusarium culmorum* of wheat. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 287, 20192527. <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.2527>
- Pal, K., Tilak, K.V.B.R., Saxena, A., Dey, R., Singh, C., 2001. Suppression of maize root disease caused by *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium moniliforme* and *Fusarium graminearum* by plant growth-promoting rhizobacteria. *Microbiol. Res.* 156, 209–23. <https://doi.org/10.1078/0944-5013-00103>
- Palojärvi, A., Kellock, M., Parikka, P., Jauhiainen, L., Alakukku, L., 2020. Tillage System and Crop Sequence Affect Soil Disease Suppressiveness and Carbon Status in Boreal Climate. *Front. Microbiol.* 11, 534786. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.534786>
- PARISSE, S., 2022. État des lieux des ventes et des achats de produits phytopharmaceutiques en France en 2020 [WWW Document]. Données Études Stat. Pour Chang. Clim. Lénergie Environ. Logement Transp. URL <https://statistiques.developpement-durable.gouv.fr/etat-des-lieux-des-ventes-et-des-achats-de-produits-phytopharmaceutiques-en-france-en-2020> (accessed 2.9.24).
- Park, I., Seo, Y.-S., Mannaa, M., 2023. Recruitment of the rhizo-microbiome army: assembly determinants and engineering of the rhizosphere microbiome as a key to unlocking plant potential. *Front. Microbiol.* 14.
- Perez, C., Dill-Macky, R., Kinkel, L.L., 2008. Management of soil microbial communities to enhance populations of *Fusarium graminearum*-antagonists in soil. *Plant Soil* 302, 53–69. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9455-6>
- Philippot, L., Raaijmakers, J.M., Lemanceau, P., van der Putten, W.H., 2013. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nat. Rev. Microbiol.* 11, 789–799. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3109>
- Pieterse, C.M.J., Zamioudis, C., Berendsen, R.L., Weller, D.M., Van Wees, S.C.M., Bakker, P.A.H.M., 2014. Induced Systemic Resistance by Beneficial Microbes. *Annu. Rev. Phytopathol.* 52, 347–375. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102340>
- Postma, J., Schilder, M.T., Bloem, J., van Leeuwen-Haagsma, W.K., 2008. Soil suppressiveness and functional diversity of the soil microflora in organic farming systems. *Soil Biol. Biochem., Special Section: Enzymes in the Environment* 40, 2394–2406. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.05.023>
- Pratama, A.A., van Elsas, J.D., 2018. The 'Neglected' Soil Virome – Potential Role and Impact. *Trends Microbiol.* 26, 649–662. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.12.004>
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., Glöckner, F.O., 2013. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res.* 41, D590–D596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
- Quiza, L., Tremblay, J., Pagé, A.P., Greer, C.W., Pozniak, C.J., Li, R., Haug, B., Hemmingsen, S.M., St-Arnaud, M., Yergeau, E., 2023. The effect of wheat genotype on the microbiome is more

- evident in roots and varies through time. *ISME Commun.* 3, 1–10. <https://doi.org/10.1038/s43705-023-00238-4>
- Ranjard, L., Richaume, A., 2001. Quantitative and qualitative microscale distribution of bacteria in soil. *Res. Microbiol.* 152, 707–716. [https://doi.org/10.1016/S0923-2508\(01\)01251-7](https://doi.org/10.1016/S0923-2508(01)01251-7)
- Roger-Estrade, J.J., Labreuche, J., Boizard, H.H., 2014. Importance du travail du sol : typologie des modes de mise en œuvre et effet sur le rendement des cultures 192 p.
- Rosenzweig, N., Tiedje, J.M., Quensen, J.F., Meng, Q., Hao, J.J., 2012. Microbial Communities Associated with Potato Common Scab-Suppressive Soil Determined by Pyrosequencing Analyses. *Plant Dis.* 96, 718–725. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-11-0571>
- Rossmann, M., Pérez-Jaramillo, J.E., Kavamura, V.N., Chiaramonte, J.B., Dumack, K., Fiore-Donno, A.M., Mendes, L.W., Ferreira, M.M.C., Bonkowski, M., Raaijmakers, J.M., Mauchline, T.H., Mendes, R., 2020. Multitrophic interactions in the rhizosphere microbiome of wheat: from bacteria and fungi to protists. *FEMS Microbiol. Ecol.* 96. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa032>
- Rousk, J., Brookes, P.C., Bååth, E., 2009. Contrasting Soil pH Effects on Fungal and Bacterial Growth Suggest Functional Redundancy in Carbon Mineralization. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 1589–1596. <https://doi.org/10.1128/AEM.02775-08>
- Santoyo, G., 2022. How plants recruit their microbiome? New insights into beneficial interactions. *J. Adv. Res.* 40, 45–58. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.11.020>
- Scher, F.M., Baker, R., 1980. Mechanism of biological control in a *Fusarium*-suppressive soil. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-70-412>
- Schlatter, D., Kinkel, L., Thomashow, L., Weller, D., Paulitz, T., 2017. Disease Suppressive Soils: New Insights from the Soil Microbiome. *Phytopathology®* 107, 1284–1297. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-17-0111-RVW>
- Schlatter, D.C., Yin, C., Hulbert, S., Paulitz, T.C., 2020. Core Rhizosphere Microbiomes of Dryland Wheat Are Influenced by Location and Land Use History. *Appl. Environ. Microbiol.* 86. <https://doi.org/10.1128/AEM.02135-19>
- Schmale III, D.G., Bergstrom, G.C., 2003. *Fusarium* head blight [WWW Document]. *Fusarium Head Blight*. URL <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/fungalasco/pdlessons/Pages/Fusarium.aspx> (accessed 5.17.22).
- Schmidt, R., Gravuer, K., Bossange, A.V., Mitchell, J., Scow, K., 2018. Long-term use of cover crops and no-till shift soil microbial community life strategies in agricultural soil. *PLOS ONE* 13, e0192953. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192953>
- Schmidt, R., Mitchell, J., Scow, K., 2019. Cover cropping and no-till increase diversity and symbiotroph:saprotroph ratios of soil fungal communities. *Soil Biol. Biochem.* 129, 99–109. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.11.010>
- Schroth, M.N., Hancock, J.G., 1982. Disease-Suppressive Soil and Root-Colonizing Bacteria. *Science* 216, 1376–1381. <https://doi.org/10.1126/science.216.4553.1376>
- Scotti, R., Mitchell, A.L., Pane, C., Finn, R.D., Zaccardelli, M., 2020. Microbiota Characterization of Agricultural Green Waste-Based Suppressive Composts Using Omics and Classic Approaches. *Agriculture* 10, 61. <https://doi.org/10.3390/agriculture10030061>
- Sebillotte, M., 1990. Systeme de culture, un concept operatoire pour les agronomes. INRA.
- Semenov, M.V., 2021. Metabarcoding and Metagenomics in Soil Ecology Research: Achievements, Challenges, and Prospects. *Biol. Bull. Rev.* 11, 40–53. <https://doi.org/10.1134/S2079086421010084>
- Shade, A., Jacques, M.-A., Barret, M., 2017. Ecological patterns of seed microbiome diversity, transmission, and assembly. *Curr. Opin. Microbiol., Environmental microbiology \* CRISPRcas9* 37, 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.03.010>
- Siegel-Hertz, K., Edel-Hermann, V., Chapelle, E., Terrat, S., Raaijmakers, J.M., Steinberg, C., 2018. Comparative Microbiome Analysis of a *Fusarium* Wilt Suppressive Soil and a *Fusarium* Wilt Conducive Soil From the Châteaurenard Region. *Front. Microbiol.* 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00568>

- Simmons, T., Caddell, D.F., Deng, S., Coleman-Derr, D., 2018. Exploring the Root Microbiome: Extracting Bacterial Community Data from the Soil, Rhizosphere, and Root Endosphere. *J. Vis. Exp. JoVE* 57561. <https://doi.org/10.3791/57561>
- Simon, L., Langin, T., Nowak, B., Marliac, G., 2023. Perennial soil characteristics are the main factor driving in vitro inhibition of the wheat fungal pathogen *Fusarium graminearum* in a French case study. *Soil Use Manag.* n/a. <https://doi.org/10.1111/sum.12998>
- Simonin, M., Dasilva, C., Terzi, V., Ngonkeu, E.L.M., Diouf, D., Kane, A., Béna, G., Moulin, L., 2020. Influence of plant genotype and soil on the wheat rhizosphere microbiome: evidences for a core microbiome across eight African and European soils. *FEMS Microbiol. Ecol.* 96. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa067>
- Singh A.K., Hamel C., DePauw R.M., Knox R.E., 2012. Genetic variability in arbuscular mycorrhizal fungi compatibility supports the selection of durum wheat genotypes for enhancing soil ecological services and cropping systems in Canada. *Can. J. Microbiol.* <https://doi.org/10.1139/w11-140>
- Sipilä, T.P., Yrjälä, K., Alakukku, L., Palojärvi, A., 2012. Cross-Site Soil Microbial Communities under Tillage Regimes: Fungistasis and Microbial Biomarkers. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 8191–8201. <https://doi.org/10.1128/AEM.02005-12>
- Smith, S.E., Read, D., 2008. INTRODUCTION, in: Smith, S.E., Read, D. (Eds.), *Mycorrhizal Symbiosis* (Third Edition). Academic Press, London, pp. 1–9. <https://doi.org/10.1016/B978-012370526-6.50002-7>
- Spor, A., Roucou, A., Mounier, A., Bru, D., Breuil, M.-C., Fort, F., Vile, D., Roumet, P., Philippot, L., Violle, C., 2020. Domestication-driven changes in plant traits associated with changes in the assembly of the rhizosphere microbiota in tetraploid wheat. *Sci. Rep.* 10, 12234. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69175-9>
- Spragge, F., Bakkeren, E., Jahn, M.T., B. N. Araujo, E., Pearson, C.F., Wang, X., Pankhurst, L., Cunrath, O., Foster, K.R., 2023. Microbiome diversity protects against pathogens by nutrient blocking. *Science* 382, eadj3502. <https://doi.org/10.1126/science.adj3502>
- Stefan, L., Hartmann, M., Engbersen, N., Six, J., Schöb, C., 2021. Positive Effects of Crop Diversity on Productivity Driven by Changes in Soil Microbial Composition. *Front. Microbiol.* 12.
- Stone, A., Scheuerell, S., Darby, H., 2004. *Suppression of Soilborne Diseases in Field Agricultural Systems: Organic Matter Management, Cover Cropping, and Other Cultural Practices.* Soil Org. Matter Sustain. Agric.
- Syed-Ab-Rahman, S.F., Carvalhais, L.C., Chua, E.T., Chung, F.Y., Moyle, P.M., Eltanahy, E.G., Schenk, P.M., 2019. Soil bacterial diffusible and volatile organic compounds inhibit *Phytophthora capsici* and promote plant growth. *Sci. Total Environ.* 692, 267–280. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.061>
- Terrat, S., Horrigue, W., Dequiedt, S., Saby, N.P.A., Lelièvre, M., Nowak, V., Tripied, J., Régnier, T., Jolivet, C., Arrouays, D., Wincker, P., Cruaud, C., Karimi, B., Bispo, A., Maron, P.A., Prévost-Bouré, N.C., Ranjard, L., 2017. Mapping and predictive variations of soil bacterial richness across France. *PLOS ONE* 12, e0186766. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186766>
- Tilman, D., Cassman, K.G., Matson, P.A., Naylor, R., Polasky, S., 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418, 671–677. <https://doi.org/10.1038/nature01014>
- Todorović, I., Moëgne-Loccoz, Y., Raičević, V., Jovičić-Petrović, J., Muller, D., 2023. Microbial diversity in soils suppressive to *Fusarium* diseases. *Front. Plant Sci.* 14, 1228749. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1228749>
- Trivedi, P., Leach, J.E., Tringe, S.G., Sa, T., Singh, B.K., 2020. Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nat. Rev. Microbiol.* 18, 607–621. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0412-1>
- Van Agtmaal, M., Straathof, A.L., Termorshuizen, A., Lievens, B., Hoffland, E., De Boer, W., 2018. Volatile-mediated suppression of plant pathogens is related to soil properties and microbial community composition. *Soil Biol. Biochem.* 117, 164–174. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.11.015>

- Vandenkoornhuysse, P., Quaiser, A., Duhamel, M., Le Van, A., Dufresne, A., 2015. The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytol.* 206, 1196–1206. <https://doi.org/10.1111/nph.13312>
- Venter, Z.S., Jacobs, K., Hawkins, H.-J., 2016. The impact of crop rotation on soil microbial diversity: A meta-analysis. *Pedobiologia* 59, 215–223. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2016.04.001>
- Viaud, V., Santillàn-Carvantes, P., Akkal-Corfini, N., Le Guillou, C., Prévost-Bouré, N.C., Ranjard, L., Menasseri-Aubry, S., 2018. Landscape-scale analysis of cropping system effects on soil quality in a context of crop-livestock farming. *Agric. Ecosyst. Environ.* 265, 166–177. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.06.018>
- Volpiano, C.G., Lisboa, B.B., José, J.F.B. de S., Beneduzi, A., Granada, C.E., Vargas, L.K., 2022. Soil-plant-microbiota interactions to enhance plant growth. *Rev. Bras. Ciênc. Solo* 46, e0210098. <https://doi.org/10.36783/18069657rbcs20210098>
- Wang, C., Zhou, X., Guo, D., Zhao, J., Yan, L., Feng, G., Gao, Q., Yu, H., Zhao, L., 2019. Soil pH is the primary factor driving the distribution and function of microorganisms in farmland soils in northeastern China. *Ann. Microbiol.* 69, 1461–1473. <https://doi.org/10.1007/s13213-019-01529-9>
- Wei, Z., Gu, Y., Friman, V.-P., Kowalchuk, G.A., Xu, Y., Shen, Q., Jousset, A., 2019. Initial soil microbiome composition and functioning predetermine future plant health. *Sci. Adv.* 5, eaaw0759. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aaw0759>
- Welbaum, G.E., Sturz, A.V., Dong, Z., Nowak, J., 2004. Managing Soil Microorganisms to Improve Productivity of Agro-Ecosystems. *Crit. Rev. Plant Sci.* 23, 175–193. <https://doi.org/10.1080/07352680490433295>
- Weller, D.M., Raaijmakers, J.M., Gardener, B.B.M., Thomashow, L.S., 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40, 309–348. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.030402.110010>
- Weyman-Kaczmarkowa, W., Pędziwilk, Z., 2000. The development of fungi as affected by pH and type of soil, in relation to the occurrence of bacteria and soil fungistatic activity. *Microbiol. Res.* 155, 107–112. [https://doi.org/10.1016/S0944-5013\(00\)80045-2](https://doi.org/10.1016/S0944-5013(00)80045-2)
- Wezel, A., Bellon, S., Doré, T., Francis, C., Vallod, D., David, C., 2009. Agroecology as a science, a movement and a practice. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 29, 503–515. <https://doi.org/10.1051/agro/2009004>
- World Reference Base | FAO SOILS PORTAL | Food and Agriculture Organization of the United Nations [WWW Document], n.d. URL <https://www.fao.org/soils-portal/data-hub/soil-classification/world-reference-base/en/> (accessed 4.28.23).
- Xue, P.-P., Carrillo, Y., Pino, V., Minasny, B., McBratney, A.B., 2018. Soil Properties Drive Microbial Community Structure in a Large Scale Transect in South Eastern Australia. *Sci. Rep.* 8, 11725. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30005-8>
- Yao, Y., Sui, X.H., Zhang, X.X., Wang, E.T., Chen, W.X., 2015. *Bradyrhizobium erythrophlei* sp. nov. and *Bradyrhizobium ferriligni* sp. nov., isolated from effective nodules of *Erythrophleum fordii*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 65, 1831–1837. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.000183>
- Yin, C., Jones, K.L., Peterson, D.E., Garrett, K.A., Hulbert, S.H., Paulitz, T.C., 2010. Members of soil bacterial communities sensitive to tillage and crop rotation. *Soil Biol. Biochem.* 42, 2111–2118. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.08.006>
- Yu, Y., Gui, Y., Li, Z., Jiang, C., Guo, J., Niu, D., 2022. Induced Systemic Resistance for Improving Plant Immunity by Beneficial Microbes. *Plants* 11, 386. <https://doi.org/10.3390/plants11030386>
- Yuan, J., Zhao, J., Wen, T., Zhao, M., Li, R., Goossens, P., Huang, Q., Bai, Y., Vivanco, J.M., Kowalchuk, G.A., Berendsen, R.L., Shen, Q., 2018. Root exudates drive the soil-borne legacy of aboveground pathogen infection. *Microbiome* 6, 1–12. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0537-x>
- Zalila-Kolsi, I., Ben Mahmoud, A., Ali, H., Sellami, S., Nasfi, Z., Tounsi, S., Jamoussi, K., 2016. Antagonist effects of *Bacillus* spp. strains against *Fusarium graminearum* for protection of durum wheat

- (*Triticum turgidum* L. subsp. durum). *Microbiol. Res.* 192, 148–158. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.06.012>
- Zha, Y., Chong, H., Yang, P., Ning, K., 2022. Microbial Dark Matter: from Discovery to Applications. *Genomics Proteomics Bioinformatics, AI in Omics* 20, 867–881. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2022.02.007>
- Zhang, J., Liu, Y.-X., Guo, X., Qin, Y., Garrido-Oter, R., Schulze-Lefert, P., Bai, Y., 2021. High-throughput cultivation and identification of bacteria from the plant root microbiota. *Nat. Protoc.* 16, 988–1012. <https://doi.org/10.1038/s41596-020-00444-7>
- Zhang, L., Xu, Z., 2008. Assessing bacterial diversity in soil. *J. Soils Sediments* 8, 379–388. <https://doi.org/10.1007/s11368-008-0043-z>
- Zhang, T., Wang, N.-F., Liu, H.-Y., Zhang, Y.-Q., Yu, L.-Y., 2016. Soil pH is a Key Determinant of Soil Fungal Community Composition in the Ny-Ålesund Region, Svalbard (High Arctic). *Front. Microbiol.* 7.
- Zhang, Y., Li, S., Jiang, D., Kong, L., Zhang, P., Xu, J., 2013. Antifungal Activities of Metabolites Produced by a Termite-Associated *Streptomyces canus* BYB02. *J. Agric. Food Chem.* 61, 1521–1524. <https://doi.org/10.1021/jf305210u>
- Zhang, Z., Qu, Y., Li, S., Feng, K., Wang, S., Cai, W., Liang, Y., Li, H., Xu, M., Yin, H., Deng, Y., 2017. Soil bacterial quantification approaches coupling with relative abundances reflecting the changes of taxa. *Sci. Rep.* 7, 4837. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05260-w>

## Annexes

Tableau 10 : Genres indicateurs des clusters de sol formés sur les caractéristiques pérennes (CEC, pH, C, Fe, Argile, Sable)

| Group 1 #sps. 24                   | Group 2 #sps. 1 | Group 3 #sps. 2  | Group 4 #sps. 1 | Group 1+3 #sps. 11         | Group 1+2+3 #sps. 1 | Group 2+4+5 #sps. 3 | Group 1+2+3+4 #sps. 1 |
|------------------------------------|-----------------|------------------|-----------------|----------------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|
| Rhodanobacter ***                  | Ammoniphilus *  | Flaviumibacter * | Neo-b11 *       | Candidatus Udaeobacter *** | JGI 0001001-H03 **  | AKYG587 ***         | ADurb.Bin063-1 **     |
| Burkholderia ***                   |                 | Cupriavidus *    |                 | Parafilimonas ***          |                     | Ilumatobacter *     |                       |
| Mucilaginibacter **                |                 |                  |                 | Pseudolabrys ***           |                     | Luteitalea **       |                       |
| Occallatibacter ***                |                 |                  |                 | Candidatus Solibacter ***  |                     |                     |                       |
| Conexibacter **                    |                 |                  |                 | Pajaroellobacter **        |                     |                     |                       |
| Granulicella ***                   |                 |                  |                 | CL500-29 marine group **   |                     |                     |                       |
| Edaphobacter ***                   |                 |                  |                 | Dokdonella ***             |                     |                     |                       |
| Oryzihumus ***                     |                 |                  |                 | Cithonomonas **            |                     |                     |                       |
| Ellin516 **                        |                 |                  |                 | Candidatus Koribacter **   |                     |                     |                       |
| Methylorosula ***                  |                 |                  |                 | Dyella *                   |                     |                     |                       |
| Roseiarcus **                      |                 |                  |                 | Rugamonas *                |                     |                     |                       |
| Cytophaga **                       |                 |                  |                 |                            |                     |                     |                       |
| Rhodiferax *                       |                 |                  |                 |                            |                     |                     |                       |
| Asticcacaulis **                   |                 |                  |                 |                            |                     |                     |                       |
| Herbaspirillum *                   |                 |                  |                 |                            |                     |                     |                       |
| Rhodopila *                        |                 |                  |                 |                            |                     |                     |                       |
| Rhodopseudomonas **                |                 |                  |                 |                            |                     |                     |                       |
| Acidiphilium *                     |                 |                  |                 |                            |                     |                     |                       |
| Acidipila-Silvibacterium *         |                 |                  |                 |                            |                     |                     |                       |
| Kineosporia *                      |                 |                  |                 |                            |                     |                     |                       |
| Methylorobacterium-Methylorubrum * |                 |                  |                 |                            |                     |                     |                       |
| Acidotherrmus *                    |                 |                  |                 |                            |                     |                     |                       |
| Oligoflexus *                      |                 |                  |                 |                            |                     |                     |                       |
| Angustibacter *                    |                 |                  |                 |                            |                     |                     |                       |



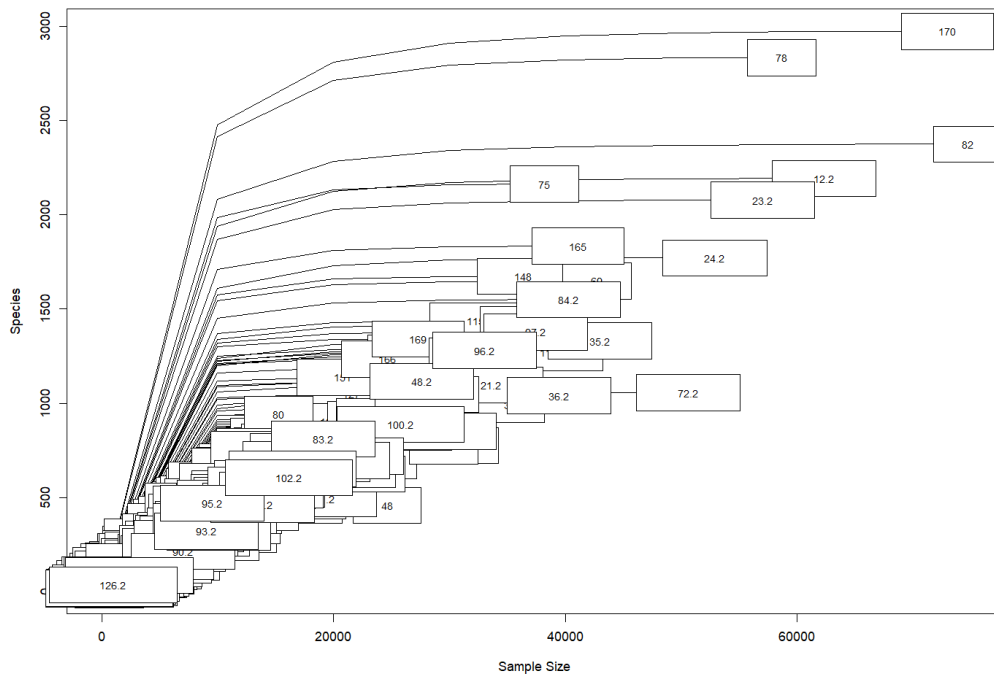


Figure 27 : Courbes de raréfaction des échantillons de sol, rhizosphère et racines après séquençage PacBio.

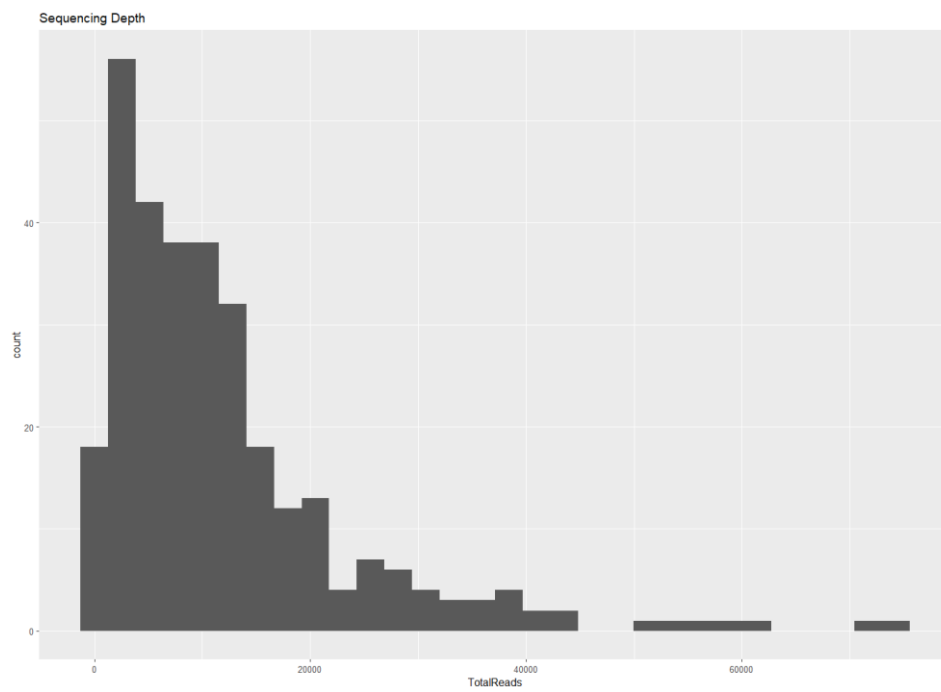


Figure 28 : Profondeur de séquençage des échantillons de sol, rhizosphère et racine.

Tableau 11 : Core microbiome du blé. Affiliation des taxons « core » (retrouvés dans au moins 50% des échantillons) du sol, de la rhizosphère et des racines.

| Phylum           | Class               | Order               | Family               | Genus           | Species        | Part        |
|------------------|---------------------|---------------------|----------------------|-----------------|----------------|-------------|
| Proteobacteria   | Gammaproteobacteria | Pseudomonadales     | Pseudomonadaceae     | Pseudomonas     | yamanorum      | Soil        |
| Proteobacteria   | Gammaproteobacteria | Burkholderiales     | Sutterellaceae       | NA              | NA             | Soil        |
| Proteobacteria   | Gammaproteobacteria | Pseudomonadales     | Pseudomonadaceae     | Pseudomonas     | yamanorum      | Soil        |
| Acidobacteriota  | Blastocatellia      | Pyrinomonadales     | Pyrinomonadaceae     | RB41            | NA             | Soil        |
| Bacteroidota     | Bacteroidia         | Chitinophagales     | Chitinophagaceae     | NA              | NA             | Rhizosphere |
| Proteobacteria   | Gammaproteobacteria | Burkholderiales     | Burkholderiaceae     | Ralstonia       | pickettii      | Rhizosphere |
| Actinobacteriota | Actinobacteria      | Propionibacteriales | Propionibacteriaceae | Microlunatus    | NA             | Rhizosphere |
| Proteobacteria   | Gammaproteobacteria | Burkholderiales     | Sutterellaceae       | NA              | NA             | Rhizosphere |
| Acidobacteriota  | Blastocatellia      | Pyrinomonadales     | Pyrinomonadaceae     | RB41            | NA             | Rhizosphere |
| Proteobacteria   | Alphaproteobacteria | Rhizobiales         | Beijerinckiaceae     | Microvirga      | ossetica       | Rhizosphere |
| Actinobacteriota | Actinobacteria      | Propionibacteriales | Propionibacteriaceae | Microlunatus    | NA             | Rhizosphere |
| Proteobacteria   | Alphaproteobacteria | Rhizobiales         | Xanthobacteraceae    | Bradyrhizobium  | NA             | Rhizosphere |
| Proteobacteria   | Gammaproteobacteria | Xanthomonadales     | Xanthomonadaceae     | Lysobacter      | NA             | Rhizosphere |
| Acidobacteriota  | Blastocatellia      | Pyrinomonadales     | Pyrinomonadaceae     | RB41            | NA             | Rhizosphere |
| Proteobacteria   | Alphaproteobacteria | Rhizobiales         | Beijerinckiaceae     | Microvirga      | ossetica       | Rhizosphere |
| Actinobacteriota | Actinobacteria      | Micrococcales       | Intrasporangiaceae   | Intrasporangium | NA             | Rhizosphere |
| Proteobacteria   | Gammaproteobacteria | Burkholderiales     | Burkholderiaceae     | Cupriavidus     | NA             | Rhizosphere |
| Proteobacteria   | Gammaproteobacteria | Burkholderiales     | SC-I-84              | NA              | NA             | Rhizosphere |
| Nitrospirota     | Nitrospira          | Nitrospirales       | Nitrospiraceae       | Nitrospira      | NA             | Rhizosphere |
| Proteobacteria   | Alphaproteobacteria | Rhizobiales         | Methyloligellaceae   | NA              | NA             | Rhizosphere |
| Proteobacteria   | Gammaproteobacteria | Burkholderiales     | Comamonadaceae       | Acidovorax      | carolinensis   | Rhizosphere |
| Proteobacteria   | Alphaproteobacteria | Rhizobiales         | Beijerinckiaceae     | NA              | NA             | Rhizosphere |
| Actinobacteriota | Actinobacteria      | Micrococcales       | Intrasporangiaceae   | Humibacillus    | NA             | Rhizosphere |
| Proteobacteria   | Gammaproteobacteria | Burkholderiales     | Comamonadaceae       | Polaromonas     | NA             | Rhizosphere |
| Actinobacteriota | Acidimicrobiia      | Microtrichales      | Ilumatobacteraceae   | Ilumatobacter   | NA             | Rhizosphere |
| Actinobacteriota | Actinobacteria      | Corynebacteriales   | Mycobacteriaceae     | Mycobacterium   | NA             | Rhizosphere |
| Proteobacteria   | Gammaproteobacteria | Burkholderiales     | Comamonadaceae       | Variovorax      | boronicumulans | Rhizosphere |
| Actinobacteriota | Actinobacteria      | Micrococcales       | Intrasporangiaceae   | NA              | NA             | Rhizosphere |
| Proteobacteria   | Gammaproteobacteria | Burkholderiales     | Comamonadaceae       | Variovorax      | NA             | Rhizosphere |
| Bacteroidota     | Bacteroidia         | Chitinophagales     | Chitinophagaceae     | NA              | NA             | Roots       |
| Actinobacteriota | Actinobacteria      | Propionibacteriales | Propionibacteriaceae | Microlunatus    | NA             | Roots       |
| Proteobacteria   | Gammaproteobacteria | Burkholderiales     | Sutterellaceae       | NA              | NA             | Roots       |
| Acidobacteriota  | Blastocatellia      | Pyrinomonadales     | Pyrinomonadaceae     | RB41            | NA             | Roots       |

|                   |                     |                    |                       |                   |                |       |
|-------------------|---------------------|--------------------|-----------------------|-------------------|----------------|-------|
| Bacteroidota      | Bacteroidia         | Chitinophagales    | Chitinophagaceae      | NA                | NA             | Roots |
| Proteobacteria    | Alphaproteobacteria | Rhizobiales        | Beijerinckiaceae      | Microvirga        | ossetica       | Roots |
| Proteobacteria    | Alphaproteobacteria | Rhizobiales        | Xanthobacteraceae     | Bradyrhizobium    | NA             | Roots |
| Actinobacteriota  | Actinobacteria      | Micrococcales      | Microbacteriaceae     | Agromyces         | ramosus        | Roots |
| Proteobacteria    | Gammaproteobacteria | Xanthomonadales    | Xanthomonadaceae      | Lysobacter        | NA             | Roots |
| Acidobacteriota   | Blastocatellia      | Pyrimonadales      | Pyrimonadaceae        | RB41              | NA             | Roots |
| Nitrospirota      | Nitrospira          | Nitrospirales      | Nitrospiraceae        | Nitrospira        | NA             | Roots |
| Proteobacteria    | Gammaproteobacteria | Burkholderiales    | Comamonadaceae        | Variovorax        | paradoxus      | Roots |
| Proteobacteria    | Gammaproteobacteria | Xanthomonadales    | Xanthomonadaceae      | Lysobacter        | NA             | Roots |
| Proteobacteria    | Gammaproteobacteria | Burkholderiales    | Comamonadaceae        | Acidovorax        | carolinensis   | Roots |
| Proteobacteria    | Gammaproteobacteria | Burkholderiales    | Comamonadaceae        | Polaromonas       | NA             | Roots |
| Proteobacteria    | Gammaproteobacteria | Burkholderiales    | Comamonadaceae        | Variovorax        | boronicumulans | Roots |
| Proteobacteria    | Alphaproteobacteria | Rhizobiales        | Rhizobiaceae          | Rhizobium         | NA             | Roots |
| Proteobacteria    | Alphaproteobacteria | Rhizobiales        | Xanthobacteraceae     | Bradyrhizobium    | NA             | Roots |
| Proteobacteria    | Alphaproteobacteria | Rhizobiales        | Rhizobiaceae          | Rhizobium         | NA             | Roots |
| Proteobacteria    | Alphaproteobacteria | Rhizobiales        | Rhizobiaceae          | Rhizobium         | NA             | Roots |
| Proteobacteria    | Gammaproteobacteria | Burkholderiales    | Comamonadaceae        | Variovorax        | NA             | Roots |
| Actinobacteriota  | Actinobacteria      | Micrococcales      | Promicromonosporaceae | Promicromonospora | umidemergens   | Roots |
| Verrucomicrobiota | Verrucomicrobiae    | Verrucomicrobiales | Rubritaleaceae        | Luteolibacter     | NA             | Roots |
| Actinobacteriota  | Actinobacteria      | Micrococcales      | Microbacteriaceae     | Galbitalea        | NA             | Roots |
| Proteobacteria    | Gammaproteobacteria | Xanthomonadales    | Xanthomonadaceae      | Pseudoxanthomonas | NA             | Roots |
| Proteobacteria    | Alphaproteobacteria | Rhizobiales        | Devosiaceae           | Devosia           | NA             | Roots |
| Proteobacteria    | Gammaproteobacteria | Xanthomonadales    | Xanthomonadaceae      | Pseudoxanthomonas | NA             | Roots |
| Actinobacteriota  | Actinobacteria      | Micrococcales      | Promicromonosporaceae | Promicromonospora | NA             | Roots |
| Proteobacteria    | Alphaproteobacteria | Rhizobiales        | Rhizobiaceae          | Rhizobium         | NA             | Roots |
| Proteobacteria    | Gammaproteobacteria | Burkholderiales    | Oxalobacteraceae      | Duganella         | NA             | Roots |
| Proteobacteria    | Gammaproteobacteria | Burkholderiales    | Comamonadaceae        | Polaromonas       | NA             | Roots |
| Proteobacteria    | Gammaproteobacteria | Burkholderiales    | Comamonadaceae        | Rhodoferax        | NA             | Roots |
| Proteobacteria    | Alphaproteobacteria | Rhizobiales        | Devosiaceae           | Devosia           | NA             | Roots |
| Proteobacteria    | Alphaproteobacteria | Rhizobiales        | Devosiaceae           | Devosia           | NA             | Roots |
| Proteobacteria    | Gammaproteobacteria | Burkholderiales    | Comamonadaceae        | Variovorax        | paradoxus      | Roots |
| Bacteroidota      | Bacteroidia         | Flavobacteriales   | Flavobacteriaceae     | Flavobacterium    | NA             | Roots |
| Bacteroidota      | Bacteroidia         | Flavobacteriales   | Flavobacteriaceae     | Flavobacterium    | pectinovorum   | Roots |
| Proteobacteria    | Alphaproteobacteria | Rhizobiales        | Rhizobiaceae          | Phyllobacterium   | NA             | Roots |
| Proteobacteria    | Alphaproteobacteria | Rhizobiales        | Rhizobiaceae          | Neorhizobium      | galegae        | Roots |

|                 |                     |                   |                    |               |               |       |
|-----------------|---------------------|-------------------|--------------------|---------------|---------------|-------|
| Proteobacteria  | Alphaproteobacteria | Rhizobiales       | Rhizobiaceae       | Rhizobium     | soi           | Roots |
| Patescibacteria | Saccharimonadia     | Saccharimonadales | Saccharimonadaceae | TM7a          | NA            | Roots |
| Proteobacteria  | Alphaproteobacteria | Rhizobiales       | Devosiaceae        | Devosia       | NA            | Roots |
| Proteobacteria  | Alphaproteobacteria | Rhizobiales       | Rhizobiaceae       | Rhizobium     | leguminosarum | Roots |
| Proteobacteria  | Alphaproteobacteria | Caulobacterales   | Caulobacteraceae   | Asticcacaulis | NA            | Roots |