



HAL
open science

Caractérisation et analyse prospective de la contribution de l'effet rhizosphère aux performances du blé (*Triticum aestivum*) en contexte de polyculture-élevage

Sébastien Mira

► To cite this version:

Sébastien Mira. Caractérisation et analyse prospective de la contribution de l'effet rhizosphère aux performances du blé (*Triticum aestivum*) en contexte de polyculture-élevage. Sciences agricoles. Institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement, 2023. Français. ⟨NNT : 2023AGROD101⟩. ⟨tel-05002667⟩

HAL Id: tel-05002667

<https://theses.hal.science/tel-05002667v1>

Submitted on 24 Mar 2025

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.



HAL Authorization

COLLEGE ECOLOGIE

DOCTORAL GEOSCIENCES

BRETAGNE AGRONOMIE ALIMENTATION



THESE DE DOCTORAT DE

L'Institut Agro Rennes-Angers

ECOLE DOCTORALE N° 600

Ecole doctorale Ecologie, Géosciences, Agronomie et Alimentation

Spécialité : « Statistiques/Modélisation en écologie, géosciences, agronomie et alimentation »

Par

Sébastien MIRA

« Caractérisation et analyse prospective de la contribution de l'effet rhizosphère aux performances du blé (*Triticum aestivum*) en contexte de polyculture-élevage »

Thèse présentée et soutenue à Rennes, le 25 janvier 2023

Unité de recherche : UMR 1069 SAS Sol Agro et hydrosystème Spatialisation

Thèse N° : D-101 2023-1

Rapporteurs avant soutenance :

Christophe Nguyen
Alain Brauman

Directeur de recherche INRAE
Directeur de recherche IRD

Composition du Jury :

Présidente : Anne Jaffrezic

Professeure Institut Agro Rennes Angers

Examineurs : Marie-Laure Martin
Stéphane Jézéquel
Mary Cathrine Leewis

Directrice de Recherche INRAE
Directeur Scientifique ARVALIS
Ph.D. Agriculture Agri Food Canada

Dir. de thèse : Edith Le Cadre
Co-dir. de thèse : Mathieu Emily

Professeure Institut Agro Rennes Angers
Professeur Institut Agro Rennes Angers

Invité(s)

Olivier Michel

Service Agronomie Eureden

La distinction fondamentale est que M. Fukuoka
cultive en coopérant avec la nature
plutôt qu'en essayant de l'« améliorer » par la conquête.

Larry Korn

Introduction de *La révolution d'un seul brin de paille* (1975) de Masanobu Fukuoka
(Guy Trédaniel Eds.)

« C'était bien avant qu'il ne reprenne la route vers le Sud. A cette époque, son esprit était encore confus parfois dissipé. Décrire, construire, déconstruire des protocoles. Il mettait en œuvre l'essentiel de son apprentissage universitaire. *Triticum aestivum* ? *turgidum* ? Bien loin de savoir jusqu'où ses propres desseins allaient le conduire, il avait déjà fait germer, au fond de son cœur, sa propre graine ».

B.T.

Remerciements

Pendant ces 3 années de thèse, j'ai eu la chance de rencontrer et d'échanger avec des personnes formidables, qui m'ont permis de mener mes recherches dans des conditions professionnelles et d'épanouissement personnel extraordinaires. Je me devais de les remercier ici.

Je tiens à remercier mon jury de thèse, Alain Brauman, Christophe Nguyen, Anne Jaffrezic, Marie-Laure Martin, Mary Cathrine Leewis et Stéphane Jezequel d'avoir accepté d'évaluer ma thèse.

Je remercie chaleureusement mes encadrants, Edith Le Cadre et Mathieu Emily. Merci à vous d'avoir rêvé ce projet commun qui allait devenir ma thèse à l'UMR SAS, et merci de m'avoir encadré et accompagné depuis 2018, au cours de nos échanges et de vos nombreuses relectures de mon travail. Merci pour votre aide, votre patience et vos encouragements, particulièrement à la fin, sans eux je n'y serais pas arrivé. Edith, merci de m'avoir transmis ta passion de l'agronomie, et merci pour tous les chouettes souvenirs de nos périples. Mathieu, c'était enrichissant de voir ton enthousiasme vis-à-vis d'une autre discipline que la tienne, et merci d'avoir partagé tes connaissances avec moi, notamment pendant le confinement. Les souvenirs de cette période partagée contribueront encore à mon évolution personnelle et professionnelle pendant longtemps, un grand merci pour ça.

Je remercie les financeurs du projet, les coopératives Agrial, Eureden et Terrena, qui ont permis que ce projet voit le jour, grâce à leur collaboration au sein de la chaire AEI en portant une vision commune et ambitieuse de l'agroécologie, en s'associant avec la recherche publique. Je remercie plus particulièrement Guillaume Gasc et Bertrand Pinel qui ont suivi le projet tout au long de la thèse. Un grand merci à Guillaume qui a toujours montré sa motivation dans ce projet et m'a accompagné au sein de la coopérative. Merci à Annick Bellamy pour les échanges privilégiés que nous avons eu dans le cadre de la chaire AEI. Je souhaite également remercier les agriculteurs partenaires du projet, Jean-Michel, Yoann, Thierry, Anthony, Jérôme, Fabrice, Cyril, David et Marcel, pour m'avoir ouvert leurs parcelles avec intérêt, ce qui est forcément stimulant quand on fait de la recherche.

Je remercie les membres du comité de thèse, Amélie Gaudin, Christophe Mougel, Florian Fort et Marie-Laure Martin, qui ont accepté de me suivre et dont les conseils ont été bénéfiques.

On dit souvent qu'une thèse est un marathon. Personnellement, je vois plutôt ça comme un match de rugby, car l'esprit d'équipe a fait partie intégrante de ce travail, au cours duquel j'ai bénéficié d'une aide EXCEPTIONNELLE. Je voudrais adresser toute ma reconnaissance à l'ensemble du personnel de l'UMR SAS, de l'UMR IGEPP et de l'UP AGAP pour leur participation lors des expérimentations de la thèse et pour leur bonne humeur. Les campagnes de prélèvement ont été des moments spéciaux grâce

à eux. Merci à l'équipe du sous-sol de l'UMR SAS, Sylvain, François, Clotilde, Florian, Marcel, Yannick (x2) et Mikaël. Merci à l'équipe analytique de l'UMR SAS, Yannick, Laurence et Gaëlle. Merci à l'équipe de serristes de l'UE La Motte, Laurent, Patrick, Frédéric et Nicolas. Et merci aux chercheur.ses qui ont participé, Rémi, Perrine et Souhil. Merci à Stéphane pour sa construction sur mesure des dispositifs de maintien des rhizoboxes à 55° tout pile. Un grand merci à Solenn pour son aide et son organisation hors pair lors de l'expérimentation dans le phytotron. Merci aux deux stagiaires, Louise et Claire, pour leur contribution dans ce projet. Merci à Monique pour sa présence dans l'unité et son aide précieuse pour la bibliographie. Merci à Annie, Karine, Maryvonne, Séverine et plus particulièrement à Michèle qui ont œuvré au quotidien pour que la thèse se passe dans les meilleures conditions.

Merci à Guénola, la cheffe d'orchestre de la spé Agroecology (en duo avec Safya) à laquelle j'ai eu la chance de participer, pour ses attentions et sa bienveillance au sein de l'unité.

Merci aux cobureaux qui se sont succédé.es au cours de la thèse, Laurent, Céline, Abderrahim, Amélie, Arnaud et aux autres précaires de l'unité pour les moments passés en votre compagnie dans et en dehors de l'unité (je pense évidemment aux parties de tarot et à la Basse-Cour). Merci aux autres doctorants de la promo 2019, Aymeric et Josh, on aura partagé trois années à rigoler ensemble.

Olive, Val, je vous aime. Merci pour tout. Gu, Bast, je vous aime aussi. Voilà, c'est dit.

Merci à Juliette, et aussi un peu Matthieu, d'avoir été ma coloc (et mon coloc) pendant ces années, alternant entre confinements et périodes de fêtes, de rugby, et surtout d'avoir pu comprendre cette vie de thésard et de l'avoir rendue fabuleuse.

Merci à la bande de Montpellier, Aude, Pauline, Mélissa, Ben (Robira et al. 2021 Royal Society Open Science 8:9) et Julie, vous n'êtes jamais très loin et c'est réconfortant. Merci à la bande de l'agro, Emilien, Jérémy, Arthur, Estelle, Léa, Marie, Sarah, Elliott, Barth, Séb, Gwendo, Loup, Agathe et j'en passe, pour tous ces moments de franche camaraderie. Merci aux copains du ROC Bruzois. Merci à Pierre-Jean et Laurence de m'avoir fait cueillir des abricots avec Bastien.

Enfin, je remercie mes parents, Ulrike et José, pour les valeurs qu'ils m'ont transmises, et ce qu'ils ont fait de moi. Je vous aime fort.

Merci à toutes et tous.

Résumé

Face aux enjeux sociétaux, environnementaux et d'érosion de la biodiversité, la reconception des systèmes de cultures mobilisant les interactions écologiques en place des intrants est cruciale à développer. L'interface sol-plante présente un intérêt majeur car elle héberge une diversité de processus impliqués dans la nutrition et la santé des plantes. Cependant, l'effet rhizosphère induit par les plantes est très dynamique, et influencé non seulement par le type de sol ou l'espèce cultivée mais également par les pratiques agricoles. Afin de prendre en compte l'interface sol-plante pour la conception de systèmes agroécologiques, l'identification des connaissances actionnables de cette interface est nécessaire. Dans une approche combinant expérimentation et modélisation statistique par équations structurales, cette thèse a permis de développer les méthodes et les connaissances nécessaires à la compréhension du fonctionnement de la rhizosphère du blé (*Triticum aestivum* var Absalon) afin de favoriser sa prise en compte dans la conception de systèmes de cultures agroécologiques. Les méthodes utilisées au cours de la thèse ont permis de développer (i) un indicateur de l'effet rhizosphère reposant sur la différence des propriétés de la rhizosphère et du sol nu, afin d'évaluer les pratiques agricoles sur les propriétés de la rhizosphère en contexte de polyculture-élevage et (ii) l'utilisation de la modélisation par équations structurales, une méthode permettant d'examiner la structure causale d'un jeu de données multivarié. En effet, un cadre de travail permettant d'utiliser les outils de modélisation par équations structurales par une approche exploratoire et une analyse multi-échelle du système sol-plante facilitant la production de connaissances actionnables ont été développés dans cette thèse. Sur mes parcelles d'étude, les résultats ont permis de mettre en avant les effets synergiques de la diversification des cultures au cours de la succession avec le travail réduit du sol sur l'intensité de l'effet rhizosphère. A l'inverse, les résultats montrent que les pratiques plus conventionnelles de labour et de succession culturale peu diversifiée et courtes dans le temps réduisent l'effet rhizosphère. Enfin, j'ai pu mettre en évidence des schémas causaux permettant de mieux comprendre les effets potentiels des processus biogéochimiques de recyclage des nutriments de la rhizosphère à la performance des plantes avec des données collectées en conditions contrôlées. Bien que l'interprétation des résultats de la modélisation par équations structurales en parcelle agricole semble limitée dans cette thèse, l'analyse multi-échelle a le potentiel d'étudier des systèmes complexes. En conclusion, ce travail de thèse mené en collaboration avec les adhérents de trois coopératives permet d'ouvrir des perspectives de conception et d'évaluation des systèmes de cultures agroécologiques à bas intrants basés sur l'effet rhizosphère.

Glossaire

Biodiversité associée : biodiversité hébergée au sein d'un agroécosystème regroupant la flore adventice des cultures, les organismes du sol (macro- et méso-faune endogée, communautés microbiennes du sol), et la macro- et méso- faune épigée et aérienne.

Biodiversité planifiée : ensemble des plantes (ou animaux) introduites intentionnellement par les agriculteurs dans l'écosystème agricole

Critère d'information d'Akaike : indice le plus courant de la théorie de l'information utilisé pour les procédures de sélection de modèles. Il estime la quantité relative d'information perdue par un modèle donné en fonction de la vraisemblance (L) et du nombre de paramètres estimés (k). La formule est $AIC = 2k - 2\ln(L)$. Plus cette valeur est faible, plus la qualité du modèle est élevée.

Hypothèse causale : relation de causalité entre deux variables qui n'a pas été testée expérimentalement.

Matrice variance covariance : matrice triangulaire composée des différentes variables mesurées apparaissant simultanément verticalement et horizontalement, où les diagonales sont les variances de chaque variable et les hors-diagonales sont les covariances entre chaque paire de variables.

Modèle de mesure : ensemble des équations linéaires associant une variable latente à une variable manifeste dans un modèle d'équations structurales à variables latentes.

Modèle structural, schéma causal ou structure causale : ensemble des relations entre les différentes variables latentes du modèle d'équations structurales.

Modélisation par équations structurales : approche de modélisation statistique multivariée permettant d'examiner la structure de causalité d'un système d'étude qui n'est pas rejetée par des données.

Relation causale, lien causal ou effet causal : relation associant deux variables de telle sorte que la modification d'une variable entraîne la modification de la seconde.

Variable latente : variable non observable ou concept théorique déduit de variables observées.

Variable manifeste : variable observée au cours d'une expérimentation.

Liste des figures

- Figure 1.1** : Représentation schématique des trois zones de la rhizosphère. Tiré de la thèse de Lepinay (2013). 31
- Figure 1.2** : Processus chimiques induits par les racines (à gauche) et processus biochimiques induits par les interactions sol-microorganismes (à droite) dans la rhizosphère. AMF : mycorhizes arbusculaires ; PGPR : bactéries promotrices de la croissance des plantes. Issue de Wang et al. (2022) iScience 25 : 104168..... 32
- Figure 1.3** : Résultats d'une méta-analyse représentant la modification des paramètres biologiques dans la rhizosphère par rapport au sol entier, traduisant ainsi un effet rhizosphère (moyennes \pm écart-type). Les paramètres étudiés sont la biomasse microbienne (Microbial C et N), l'abondance des communautés bactériennes et fongiques, la concentration en ergosterol, l'abondance faunique (amibes et nématodes), la quantité d'ADN et l'activité biologique du sol caractérisée par la respiration et la Vmax de cinq enzymes. La ligne verticale en pointillés correspond à l'absence d'effet rhizosphère. Tiré de Kuzyakov and Blagodatskaya (2015) Soil Biology and Biochemistry 83 :184-199. 34
- Figure 1.4** : Représentation de la distribution spatiale des principaux gradients de la rhizosphère observés en conditions contrôlées. La taille des gradients dépend des paramètres étudiés : 0,5-2 mm (à droite), 2-4 mm (en bas à gauche), et >4 mm (en haut à gauche). Chaque courbe indique une augmentation ou une réduction du paramètre étudié en fonction de la distance à la racine. Pour chaque courbe, la flèche indique le sens du gradient (vers la racine ou vers le sol). HM : métaux lourds (Zn, Cu, Ni, Co, Pb, Cd, As). Tiré de Kuzyakov and Razavi (2019) Soil Biology and Biochemistry 135 :343-360..... 36
- Figure 1.5** : Représentation graphique de quatre gradients de la rhizosphère observés grâce à différentes méthodes de visualisation. (a) Visualisation de cellules de différents taxons microbiens au niveau du rhizoplan d'*Arabidopsis thaliana* grâce à une méthode de détection par CARD-FISH par microscopie confocale à balayage laser. Tiré de Bulgarelli et al. (2012) Nature 488, 91–95. (b) Variation de l'activité mesurée en $\text{pmol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ de la leucine aminopeptidase (en haut à gauche), de la phosphatase acide (en haut à droite), de la β -glucosidase (en bas à gauche) et de la cellobiohydrolase (en bas à droite) à proximité de racines de maïs (*Zea mais*) cultivé en rhizoboxes (au centre) Tiré de Razavi et al. (2016) Soil Biology and Biochemistry 96 : 229-237. (c) Evolution de la pression partielle de CO_2 au cours de la croissance d'une racine (en blanc) de *V. juncea*. (d) Evolution du pH autour de racines de pois chiche (*Cicer arietinum*) et de blé (*Triticum turgidum durum*) grâce à des optodes planaires. Tiré de Blossfeld et al. (2013) Annals of Botany 222 : 267-276. 37
- Figure 1.6** : A gauche : Diversité des processus chimiques contrôlant la disponibilité environnementale des éléments. La nature des minéraux du sol et leur quantité conditionne les processus à l'interface

sol plante. Issu de Essington (2003) Soil and Water Chemistry: An Integrative Approach. A droite : Extension du gradient de pH induit par les racines de pois chiche (<i>Cicer arietinum</i>) en fonction de la teneur en CaCO ₃ , détectée dans des rhizoboxes après imprégnation du sol avec de la gélose indicatrice de pH. Issu de Luster et al. (2009) Plant Soil 321, 457–482.	39
Figure 1.7 : Processus biologiques et chimiques induits par les plantes modifiant la biodisponibilité du phosphore au niveau de la rhizosphère. Issu de Richardson et al. (2009) Plant Soil 321, 305–339.....	41
Figure 1.8 : Représentation schématique de l’effet de la présence de mucilages au niveau de l’apex d’une racine sur les propriétés hydrauliques de la rhizosphère en conditions de stress hydrique. La présence de mucilage permet de maintenir la teneur en eau de la rhizosphère et de conserver la connectivité entre les agrégats du sol et la racine. Issu de Zarebanadkouki et al. (2019b) Vadose Zone Journal, 18: 1-13 190021.....	42
Figure 1.9 : Représentation schématique des différentes étapes de colonisation du rhizoplan par les communautés microbiennes de la rhizosphère à l’origine de la formation d’un biofilm. Adapté par Le Cadre (2022) d’après Pieterse et al. (2014) Annual Review of Phytopathology, 52:347-375.....	44
Figure 1.10 : Protocole d’échantillonnage de sol entier (Bulk soil), de sol rhizosphérique (R) et du rhizoplan (RP) dans une solution de NaCl. Tiré de Barillot et al. (2013) Ann Microbiol 63:471–476. ...	48
Figure 1.11 : Correspondance des traits écologiques et des mesures agronomiques. Contribution originale.....	50
Figure 1.12 : Modèle d’équations structurales à variables latentes composé de variables manifestes (représentées par des rectangles) associées à différentes variables latentes (représentées par des ovales) caractérisant la diversité des communautés microbiennes du sol (BC), la diversité fonctionnelle des nématodes bactériovores (BFN), la croissance des racines (RG) et la nutrition des plantes (PN). Les flèches indiquent les relations causales du modèle. Issu de Brondani et al. (2022) Geoderma 425 : 116068.....	55
Figure 2.1 : Représentation schématique des questions de recherche abordées dans la thèse. Les jeux de données 1 et 2 vont permettre de caractériser l’effet rhizosphère sur les parcelles agricoles (sous-question de recherche 1), tandis que les jeux de données 3 et 4 vont permettre d’examiner les hypothèses causales du système sol-plante (sous-question de recherche 2).	80
Figure 2.2 : Représentation schématique des relations testées entre les trois compartiments (ou composantes en terminologie des modèles par équation structurales) du système d’étude dans une approche exploratoire. Les flèches (A) et (C) indiquent les relations causales hypothétiques testées grâce à la modélisation par équations structurales entre les compartiments d’étude. La flèche (B) barrée par une croix indique que l’hypothèse a été faite au cours de la thèse que cette relation causale est absente.	82

Figure 2.3 : Représentation synthétique des expérimentations menées dans l’approche de modélisation statistique. Les relations testées dans le système sol-plante (A) a été étudiée grâce à une démarche exploratoire menée sur des données collectées en conditions contrôlées et à l’échelle plante individuelle (B) et en conditions de terrain et à l’échelle couvert végétal (C). Une analyse multi-échelle nourrie par les données collectées lors des deux expérimentations a été réalisée pour tester les relations causales observées sur le système sol-plante.....	83
Figure 3.1 : Moyennes mensuelles de pluviométrie et de températures aux stations météorologiques INRAE (a) du Rheu (35) et (b) de Naizin (56) entre 2016 et 2021.	86
Figure 3.2 : Représentation schématique du dispositif expérimental utilisé pour réaliser les mesures sur le sol rhizosphérique et le sol entier pour l’étude réalisée dans (a) le chapitre 4 (jeu de données 1) et (b) le chapitre 5 (jeu de données 2).....	90
Figure 3.3 : Photographie des rhizoboxes et des dispositifs de maintien dans le phytotron de l’UMR IGEPP.	93
Figure 3.4 : Image aérienne de la parcelle L404 de l’essai BIODIVERSYSTEM. Les deux lignes parallèles représentent les lignes de collecte des échantillons.....	94
Figure 3.5 : Diagramme acyclique dirigé représentant un modèle d’équations structurales à variables latentes. Trois variables latentes (VL) représentent le modèle structural et sont définies par deux ou trois variables manifestes (VM). Une relation causale est représentée par la flèche orientée de la VL3 vers la VL1, une relation de covariation est représentée par la double flèche entre la VL1 et la VL2 tandis qu’il n’y a pas de relation entre la VL2 et la VL3.	100
Figure 4.1 : Graphs of (a) individuals and (b) variables of principal component analysis (PCA) of bulk soil and rhizosphere variables collected on each sampling date (t1, t2, t3, t4, t5) for each crop-diversification level (High, Moderate and Low). The variances explained by PCA axes are given in parentheses. N=4 replicates were collected per soil compartment, per crop-diversification level and per sampling date.....	120
Figure 4.2 : The Rhizosphere Effect Indicator (REI) calculated with (a) nitrate (REI_NO3) and (b) phosphate (REI_PO43) fluxes measured in bulk soil and rhizosphere soil on each sampling date (t ₁ , t ₂ , t ₃ , t ₄ , t ₅) after incubation of anion exchange membranes in each crop-diversification subplot (High, Moderate and Low). Vertical bars indicate 95% confidence intervals, and REIs differed significantly from zero when their confidence intervals excluded zero. Positive values of REI indicated higher values of the variable in rhizosphere than in bulk soil, while negative values indicated higher values in bulk soil than in rhizosphere. N=4 replicates were collected per soil compartment, per crop-diversification level and per sampling date.	121
Figure 4.3 : The Rhizosphere Effect Indicator (REI) calculated with activities of (a) acid phosphatase (REI_PAC), (b) alkaline phosphatase (REI_PAK), (c) β-glucosidase (REI_GLU) and (d) arylamidase	

(REI_ARA) measured in bulk soil and rhizosphere soil on each sampling date (t_1, t_2, t_3, t_4, t_5) for each crop-diversification level (High, Moderate and Low). Vertical bars indicate 95% confidence intervals, and REIs differed significantly from zero when their confidence intervals excluded zero. Positive values of REI indicated higher values of the variable in rhizosphere than in bulk soil, while negative values indicated higher values in bulk soil than in rhizosphere. N=4 replicates were collected per soil compartment, per crop-diversification level and per sampling date. 121

Figure 4.4 : Bacterial and fungal alpha diversity, represented by the number of amplicon sequence variants (ASVs) observed and Shannon and Pielou indices (mean \pm SE) measured at the flowering stage for each crop-diversification level (High, Moderate and Low). Letters indicate significant differences among crop-diversification levels for both bacteria and fungi. N=4 replicates were collected per soil compartment and per crop-diversification level (see Online resource 4). 124

Figure 4.5 : (a) Bacterial and (b) fungal beta diversity measured at the flowering stage for each crop-diversification level (High, Moderate and Low) and analyzed using a Bray-Curtis distance-based redundancy analysis (db-RDA). The variances explained by db-RDA axes are given in parentheses. N=4 replicates were collected per soil compartment and per crop-diversification level. 125

Figure 4.6 : The integrated Rhizosphere Effect Indicator (REI) calculated with the coordinates of bulk soil and rhizosphere soil samples on the first component of principal component analysis of fluxes of nitrates and phosphates and activities of acid and alkaline phosphatase, β -glucosidase and arylamidase on each sampling date (t_1, t_2, t_3, t_4, t_5). Vertical bars indicate 95% confidence intervals, and the REI differed significantly from zero when its confidence interval excluded zero. Positive values of the REI indicated higher values of the variable in rhizosphere than in bulk soil, while negative values indicated higher values in bulk soil than in rhizosphere. N=4 replicates were collected per soil compartment, per crop-diversification level (High, Moderate, Low) and per sampling date..... 127

Figure 5.1 : Measured (lower symbols) and means (upper symbols) of arylamidase (a), β -glucosidase (b), acid phosphatase (c) activities in (d) in bulk soil (BS) and rhizosphere (RS) for each crop diversification level (Low and High) and each soil tillage practice (conventional CT and reduced RT). Integrated rhizosphere variable calculated is presented in panel (d)..... 153

Figure 5.2 : Arylamidase (ARA), β -glucosidase (GLU), acid phosphatase (PHOS) and the integrated soil variable (Integrated) for each combination of crop diversification level (Low or High) and soil tillage practice (conventional CT or reduced RT). Different letters indicate significant pairwise comparisons between modalities..... 156

Figure 6.1 : Directed acyclic graphs (DAGs) used in an exploratory approach based on Latent Variable Structural Equation Modeling. Rectangles stands for Manifest Variables VM1 to VM9; circles for latent variables VL 1 to VL3, and edges dashes single-headed arrow that points from a variable to itself, characterize the residual variance of each variable. In left panel (1.a), the structural model is defined

by three latent variables (VL1, VL2 and VL3). The causal link between VL1-VL2 is unambiguous (black oriented arrow) and, when no theory supports any directional effect, double-headed arrows are used to indicate a covariance effect. The causal link between VL1-VL3 is uncertain (red arrow) thus leading to two competing structural models: one DAG with the arrow and one DAG without the arrow. In the right part (1.b), latent variables are fed by a total of 9 manifest variables (VM1-VM9). In an exploratory analysis, both models are considered as two candidate structural models in a space of causality pattern..... 170

Figure 6.2 : Data driven decomposition of one measurement model. In the initial conceptual model (top left part of the figure), the system attribute VL1 is ambiguous. The measurement model associated with the attribute VL1 is fed by 4 manifest variables. The principal component analysis based on the observations of these 4 variables shows the multidimensionality of the measurement space. Given the statistical expertise based on the graph of variables and the level of contribution of each manifest variables to the principal components, and the biological expertise that confirm the relevance of the components, the initial attribute VL1 is subdivided into two latent variables VL1a and VL1b. 173

Figure 6.3 : Directed Acyclic Graph (DAG) of the conceptual modeling of case study (soil:plant interface or rhizosphere) made by 4 black described attributes (Ears, Shoots, Leaves and Root in black circles) and 1 red ambiguous attribute (Rhizosphere in red circle). Uncertain elements are used to build a space of causality patterns in our exploratory framework. The Rhizosphere attribute may therefore be decomposed in more than one latent variable..... 175

Figure 6.4 : General causality patterns (A, B, C, D and E) obtained from the Principal Component Analysis decomposition of the Rhizosphere attribute into three latent variables. The grey circles correspond to the three latent variables from the Rhizosphere attribute. 177

Figure 6.5 : Building and exploration of the causal space. The initial causal space is made by 38 models constructed from the general causality patterns displayed in Figure 6.4 and the ambiguities on causal relationships between the Root/Rhizosphere attributes and within the Rhizosphere attribute. Exploration of the causal space reduces the causal space to the five validated models (B1, C1, D2, E1 and invE1)..... 178

Figure 6.6 : Five validated models (B1, C1, D2, E1 and invE1) issued from the causality space. For each model, the Akaike Information Criteria (AIC), the Goodness Of Fit (GOF) pvalue and the degrees of freedom (Df) are reported. The arrows in red correspond to regression links in the structural model (i.e. between latent variables) that are significantly different from 0..... 180

Figure 7.1 : Rappel des schémas causaux retenus grâce à l'utilisation des 54 observations du jeu de données 3. 192

Figure 7.2 : Exemple de sortie R de la fonction sem() du package lavaan. Ces résultats indiquent que les paramètres n'ont pas été estimés grâce à la méthode du maximum de vraisemblance (ML) et que la statistique de test du χ^2 n'a pas pu être calculée (NA).	192
Figure 7.3 : Estimation des probabilités de Non-Rejet, de Rejet et d'échec (Non estimé) pour les 5 schémas structuraux en fonction du nombre d'observations tirées aléatoirement à partir du jeu de données 3.	194
Figure 7.4 : Résultats de l'Analyse en Composantes Principales effectuée sur les variables de la rhizosphère mesurées en parcelle agricole (jeu de données 4). (a) graphe des corrélations de l'ACP et (b) contribution de chaque variable à la construction des trois premières dimensions.	195
Figure 7.5 : Schémas causaux construits en conservant uniquement une variable latente par composante d'étude pour les sens ENZYMES \rightarrow RACINES (Modèle 2.0) et ENZYMES \leftarrow RACINES (Modèle inv2.0).	197
Figure 7.6 : Schémas causaux construits en conservant uniquement la variable latente ENZYMES dans le compartiment de la rhizosphère pour les sens ENZYMES \rightarrow RACINES (Modèle 2.1) et ENZYMES \leftarrow RACINES (Modèle inv2.1).	198
Figure 7.7 : Schémas causaux construits avec une variable latente AERIEN représentée par l'ensemble des variables mesurées sur les épis, les feuilles et les tiges, une variable latente RACINES représentée par la Biomasse Racinaire et la SRL et une variable latente ENZYMES composées des trois enzymes pour les sens ENZYMES \rightarrow RACINES (Modèle 2.2) et ENZYMES \leftarrow RACINES (Modèle inv2.2). Ces modèles sont testés avec le jeu de données 4.	199
Figure 7.8 : Schémas causaux construits en supprimant la variable manifeste SRL à la variable latente RACINES pour les sens ENZYMES \rightarrow RACINES (Modèle 2.3) et ENZYMES \leftarrow RACINES (Modèle inv2.3)	200
Figure 7.9 : Schémas causaux construits en conservant les variables manifestes N tiges et Biomasse Foliaire pour définir, respectivement, les variables latentes TIGES et FEUILLES pour les sens ENZYMES \rightarrow RACINES (Modèle 2.4a) et ENZYMES \leftarrow RACINES (Modèle inv2.4a).....	201
Figure 7.10 : Schémas causaux construits en conservant la variable latente FEUILLES associée à la Biomasse Foliaire (Modèles 2.5a et inv2.5a) ou à la Surface Foliaire (Modèles 2.5b et inv2.5b) et en supprimant la variable latente TIGES pour les sens ENZYMES \rightarrow RACINES et ENZYMES \leftarrow RACINES.	202
Figure 7.11 : Schémas causaux construits avec une variable latente AERIEN représentée par les variables manifestes de Biomasse Epis, N Epis et l'une des quatre VM Surface Foliaire (Modèle 2.6a), Biomasse Foliaire (Modèle 2.6b), Biomasse Tiges (Modèle 2.6c) et N Tiges (Modèle 2.6d) pour le sens ENZYMES \rightarrow RACINES. Ces modèles sont testés avec le jeu de données 4	203

Figure 7.12 : Schémas causaux construits avec une variable latente AERIEN représentée par les variables manifestes de Biomasse Epis, Biomasse Foliaire et Biomasse Tiges pour le sens ENZYMES → RACINES (Modèle 2.7) et le sens ENZYMES ← RACINES (Modèle inv2.7).	205
Figure 7.13 : Schémas causaux construits en supprimant les variables latentes TIGES et FEUILLES pour relier directement les variables latentes RACINES et EPIS dans le sens ENZYMES → RACINES (Modèle 2.8) et le sens ENZYMES ← RACINES (Modèle inv2.8). Ces modèles sont testés avec le jeu de données 4.	207
Figure 7.14 : Nuage de points et droite de régression représentant (a) le nombre d'épis par plant en fonction du nombre de tiges par plant pour l'expérimentation en conditions contrôlées et (b) la moyenne du nombre d'épis par plant en fonction de la moyenne du nombre de tiges par plant en parcelle agricole. La taille du point indique le nombre d'observations pour chaque point (de 1 à 8).	211
Figure 8.1 : Comparaison de l'intensité de l'effet rhizosphère en fonction des pratiques de diversification des cultures et du travail du sol obtenue grâce aux études menées dans les chapitres 4 et 5.	217
Figure 8.2 : Modèles d'équations structurales représentatifs du modèle structural identifié pour (a) le sens ENZYMES → RACINES et (b) le sens ENZYMES ← RACINES grâce au cadre de travail de l'approche exploratoire de la modélisation par équations structurales à variables latentes.	219
Figure 8.3 : Représentation schématique de l'échelle TRL et positionnement de la thèse, de l'approche de modélisation (SEM) et de l'approche expérimentale permettant de caractériser l'effet rhizosphère (REI).	222
Figure 8.4 : Photographie de l'atelier de travail réalisé avec les agriculteurs partenaires du projet. Crédits photo : E. Le Cadre, Institut Agro Rennes Angers.	223
Figure 8.5 : Représentation schématique des différentes étapes de conception de l'indicateur de l'effet rhizosphère.	223

Liste des tables

Table 1.1 : Liste des principaux traits racinaires permettant de caractériser la morphologie, la physiologie et la phénologie des plantes. Adapté de la liste exhaustive de traits présentée par Freschet et al. (2021a) <i>New Phytol</i> , 232: 973-1122.....	51
Table 3.1 : Parcelles d'étude sélectionnées pour mener les expérimentations du chapitre 4 (jeu de données 1), du chapitre 5 (jeu de données 2) et du chapitre 7 (jeu de données 4). La liste complète des parcelles candidates proposées par les coopératives et enquêtées lors de cette thèse sont présentées en annexe 1 (Table A1.1). * Les données du chapitre 6 (jeu de données 3) sont issues du sol de la parcelle 10 prélevé dans le maïs le 22/07/2020.	88
Table 3.2 : Analyses de sol effectuées sur trois rhizoboxes tests après 12 jours d'incubation à une humidité correspondant à 73% de pF 2.	92
Table 4.1 : Geographic position and agricultural practices performed by the farmers on the three sites.	113
Table 4.2 : Soil physicochemical characteristics measured on the sub plots within fields at two depths (0-30 cm and 30-60 cm).	114
Table 4.3 : Values of the Rhizosphere Effect Indicator (REI) calculated with nitrates fluxes (REI_NO3), phosphates fluxes (REI_PO43), acid phosphatase activities (REI_PAC), alkaline phosphatase activities (REI_PAK), β -glucosidase activities (REI_GLU) and arylamidase activities (REI_ARA) at each sampling date (t_1, t_2, t_3, t_4, t_5 ; N=4) and for the three crop-diversification levels (High, Moderate and Low). P values when comparing to 0 (Welch t-test; $P < 0.05$) are indicated under their associated REI value. According to a multiple pairwise comparison followed by Bonferroni corrections ($P < 0.05$), bold letters represent significant differences between REI values: lowercase letters represent significant differences between crop-diversification levels at the same sampling date, capital letters represent significant differences between sampling dates within the same crop-diversification level.	123
Table 4.4 : Values of the Rhizosphere Effect Indicator (REI) based on bacterial and fungal richness (REI_ASVs), diversity (REI_Shannon) and evenness (REI_Pielou) at flowering for each crop-diversification level. P values of each REI when comparing with the 0 are indicated in brackets (Welch t.test; $P < 0.05$).	126
Table 4.5 : Values of the integrated Rhizosphere Effect Indicator (REI). Integrated REI were calculated with the coordinates of the samples collected in bulk and rhizosphere soils on the first component of the PCA at each sampling date (t_1, t_2, t_3, t_4 and t_5) and for the three crop-diversification levels (High, Moderate and Low). P values are indicated under their associated REI values (Welch t.test; $P < 0.05$). According to a multiple pairwise comparison followed by Bonferroni corrections ($P < 0.05$), bold letters represent significant differences between REI values: lowercase letters represent significant	

differences between crop-diversification levels at the same sampling date, capital letters represent significant differences between sampling dates within the same crop-diversification level. 127

Table 5.1 : Site description of farm plots located in Brittany, France..... 150

Table 5.2: Model estimates and P values of the rhizosphere effect and the rhizosphere effect given each level of crop diversification (High or Low), soil tillage practice (CT Conventional or RT Reduced) or each combination of a level of crop diversification and a tillage practice obtained by pairwise comparisons between means estimated by the models for arylamidase, β -glucosidase, acid phosphatase and the integrated rhizosphere variable. * stands for significant differences with associated P values, and grey colour for non-significant results. 154

Table 5.3: model estimates and P values of pairwise comparisons of the rhizosphere effect between each level of crop diversification (High or Low), soil tillage practice (CT Conventional or RT Reduced) or each combination of a level of crop diversification and a tillage practice for arylamidase, β -glucosidase, acid phosphatase and the integrated rhizosphere variable. * stands for significant differences with associated p values, and grey colour for non-significant results. 155

Table 7.1 : Tableau synthétique des résultats obtenus grâce la démarche de simplification des modèles testés pour le sens ENZYMES → RACINES..... 197

Table 7.2 : Résultats des paramètres estimés relatifs aux coefficients de régression calculés pour le modèle 2.6b avec le **jeu de données 4** et le **jeu de données 3**. 204

Table 7.3 : Résultats des paramètres estimés relatifs aux coefficients de régression calculés pour les modèles 2.7 et inv2.7 avec le jeu de données 4 et le jeu de données 3..... 206

Table 7.4 : Résultats des paramètres estimés relatifs aux coefficients de régression calculés pour les modèles 2.8 et inv2.8 avec le jeu de données 4 et le jeu de données 3..... 207

Liste des équations

- Equation 3.1** : Indice de diversification des cultures (IDC) calculé en fonction du nombre d'espèces implantées au cours de la succession (Nespèces) et de la durée de la succession la plus longue parmi toutes les parcelles d'étude (x). 87
- Equation 3.2** : Indicateur de l'effet rhizosphère utilisé dans le chapitre 4. α , variance et N représentent les moyennes observées, la variance et le nombre d'observations dans le compartiment rhizosphère (RS) et sol entier (BS Bulk Soil), respectivement. 97
- Equation 3.3** : Modèle linéaire où Y_{ij} représente la mesure estimée du paramètre étudié dans le compartiment i . $\mu + \alpha_i$ est l'espérance de la mesure pour le groupe i . ε_{ij} représente une variable aléatoire résiduelle..... 97
- Equation 3.4** : Indicateur de l'effet rhizosphère lorsque l'hypothèse d'égalité des variances est vérifiée dans les compartiments rhizosphère (RS) et sol entier (BS Bulk Soil)..... 97
- Equation 3.5** : Modèle linéaire mixte où Y_{ijklm} représente l'activité enzymatique calculée dans le compartiment i , le niveau de diversification j , le mode de travail du sol k , la parcelle l et le réplicat m . α , β et γ représentent les coefficients relatifs aux effets fixes (compartiment, diversification des cultures et travail du sol, respectivement) et D_l l'effet aléatoire associé à la parcelle l . μ représente la moyenne du paramètre étudié. ε_{ijklm} représente une variable aléatoire résiduelle. 97
- Equations 3.6** : Indicateurs de l'effet rhizosphère utilisés dans le chapitre 5 pour caractériser (a) la différence entre les deux compartiments rhizosphère (RS) et sol entier (BS), (b) la différence entre les deux compartiments selon la modalité j du facteur β , (c) la modalité k du facteur γ et (d) la combinaison de deux modalités j et k des facteurs β et γ , respectivement. α , $\alpha\beta$ et $\alpha\beta\gamma$ représentent les moyennes estimées par le modèle. 98
- Equation 3.7** : Ecriture matricielle du modèle structural d'un modèle d'équations structurales à variables latentes avec B la matrice des coefficients des VLs endogènes, η le vecteur des VLs endogènes, Γ la matrice des coefficients des VLs exogènes, ξ le vecteur des VLs exogènes et ζ le vecteur des erreurs de mesure des VLs endogènes..... 100
- Equations 3.8** : Ecriture matricielle du modèle de mesure d'un modèle d'équations structurales à variables latentes avec Λ_x la matrice de coefficients des VMs exogènes associées aux VLs exogènes et Λ_y la matrice de coefficients des VMs endogènes associées aux VLs endogènes. 101
- Equation 4.1** : Rhizosphere Effect Indicator (REI) calculated with rhizosphere (RS) and bulk soil (BS) samples..... 118
- Equation 5.1** : Crop Diversification Index (CDI)..... 149
- Equation 6.1** : Number of non-redundant elements, where q is the number of manifest variables. 172

Equation 8.1 : Indicateur de l'effet rhizosphère utilisés dans le chapitre 5 pour caractériser la combinaison de deux modalités j et k des facteurs β et γ , respectivement. α , $\alpha\beta$ et $\alpha\beta\gamma$ représentent les moyennes estimées par le modèle linéaire multiple..... 224

Table des matières

Introduction	21
Cadre professionnel de la thèse	27
Chapitre 1 Etat de l’art	29
1. Transition agroécologique et fonctions écologiques de la rhizosphère.....	30
2. Contribution de la rhizosphère à la nutrition et santé des plantes.....	40
3. Les pratiques agricoles comme levier de l’effet rhizosphère.....	44
4. Méthodes de mesure de l’effet rhizosphère.....	47
5. La production de connaissances actionnables sur l’effet rhizosphère pour la conception de systèmes de cultures agroécologiques.....	53
6. Références.....	56
Chapitre 2 Objectifs, problématique et stratégies de thèse	77
1. Identification des verrous scientifiques	78
2. Construction de la problématique de la thèse.....	79
3. Stratégies de recherche.....	80
4. Organisation du mémoire de thèse.....	84
Chapitre 3 Matériel et méthodes	85
1. Présentation générale	86
2. Sélection des parcelles d’étude.....	87
3. Méthodes de prélèvements des échantillons de sol et de plantes.....	89
4. Variables mesurées lors des expérimentations	94
5. Détermination de l’effet rhizosphère.....	96
6. Modélisation par équations structurales à variables latentes	99
7. Références.....	105
Chapitre 4	107
1. Introduction.....	110
2. Materials and methods	112
3. Results	119
4. Discussion	128
5. Conclusion	131
6. References.....	132
7. Online Resources.....	139
Chapitre 5	145
1. Introduction.....	148
2. Material and methods.....	149
3. Results	153
4. Discussion	157

5. Conclusion	159
6. References	159
Chapitre 6	165
1. Introduction.....	168
2. A framework for explanatory analysis based on Latent Variable Structural Equation Modeling.....	169
3. Framework application to above-belowground interactions	174
4. Results and Discussion	181
5. References.....	183
Chapitre 7	187
1. Introduction.....	190
2. Analyse en parcelle agricole des structures causales identifiées en conditions contrôlées	191
3. Analyse en conditions contrôlées de modèles sélectionnés en conditions de terrain	195
4. Discussion	208
5. Conclusion	212
6. Références.....	213
Chapitre 8 Discussion générale	215
1. Résultats principaux de la thèse.....	216
2. Limites	219
3. Perspectives et conclusions de la thèse	220
4. Références.....	226
Annexes	229

Introduction

Théorisées par [Rockström et al. \(2009\)](#), les limites planétaires fixent des seuils à ne pas franchir pour les paramètres essentiels au fonctionnement du système Terre, afin de maintenir des conditions propices aux activités humaines ([Steffen et al. 2015](#)). Or, l'agriculture est directement ou indirectement impliquée dans toutes les limites planétaires franchies à ce jour ([Campbell et al. 2017](#)). Depuis 1950, la modernisation et l'intensification des systèmes agricoles des pays industrialisés s'accompagnent de flux dirigés vers l'environnement qui mettent en péril le fonctionnement des agroécosystèmes ([Stoate et al. 2001](#), [Sutton et al. 2011](#), [Vermeulen et al. 2012](#), [Steffen et al. 2015](#), [Lemaire et al. 2021](#), [Persson et al. 2022](#)). Ainsi, la modification des flux biogéochimiques, par les activités agricoles modifie les cycles du carbone, phosphore et l'azote affectant la durabilité des écosystèmes ([Steffen et al. 2015](#), [Persson et al. 2022](#)) ou la qualité de l'air ([Sutton et al. 2011](#), [Vermeulen et al. 2012](#)). Par ailleurs, les activités agricoles sont le principal moteur de l'érosion de biodiversité par le changement d'usages des sols et l'utilisation d'intrants chimiques ([Robertson and Vitousek 2009](#), [Cordell and White 2014](#), [Dudley and Alexander 2017](#), [IPBES 2019](#)). Ces perturbations environnementales altèrent la capacité des agroécosystèmes à fournir durablement les services écosystémiques de production, régulation, support et culturels essentiels à notre existence ([Millenium Ecosystem Assessment 2005](#), [Emmerson et al. 2016](#), [IPCC 2019](#), [Ricciardi et al. 2021](#)). Face à l'augmentation de la population mondiale, qui devrait atteindre 9,7 milliards d'êtres humains en 2050 ([United Nations 2022](#)), la production agricole devra augmenter de 51% en 2050, par rapport à 2010, et être mieux répartie pour satisfaire les besoins alimentaires de la population mondiale ([Foley et al. 2011](#), [Godfray 2014](#), [van Dijk et al. 2021](#)). Ainsi, dans un contexte de changements globaux liés à l'épuisement des ressources, à l'érosion de la biodiversité et au dérèglement climatique, l'agriculture ne fait pas exception dans la liste des secteurs économiques qui doivent être repensés.

L'agroécologie correspond à une reconception des manières de produire afin de soutenir les besoins alimentaires sans compromettre la capacité de l'agroécosystème à maintenir la durabilité de sa production ([FAO 2009](#), [Wezel et al. 2020](#), [MacLaren et al. 2022](#)). Il existe deux voies de modernisation agroécologique des systèmes agricoles, l'une qualifiée de « forte », et l'autre de « faible » ([Duru et al. 2015b](#)). L'agroécologie faible repose sur une meilleure efficacité des intrants et la réduction des rejets dans l'environnement et ne remet pas fondamentalement en cause les méthodes de production du système agricole actuel ([Duru et al. 2015a](#)). Or, il apparaît urgent de promouvoir la bifurcation des systèmes agricoles vers l'agroécologie forte qui repose sur une plus grande biodiversité ([Caquet et al. 2020](#)). La conception de systèmes de cultures fondés sur le paradigme d'une modernisation agroécologique forte doit permettre de remplir les objectifs de productivité et de durabilité environnementale ([Carof et al. 2022](#)). Les systèmes relevant de la voie « forte » ont le potentiel de substituer l'usage d'intrants par les interactions biologiques entre les différents organismes et les

processus biologiques de l'agroécosystème qui en découlent, notamment au niveau des sols ([Caquet et al. 2020](#), [Jacquet et al. 2022](#)). Dans le sol, le compartiment de la rhizosphère, identifié dès 1904 par Hiltner, correspond au volume de sol influencé par l'activité de racines vivantes ([Curl and Truelove 1986](#)). La rhizosphère a des propriétés biologiques, physiques et chimiques très différentes du reste du sol et l'ensemble des modifications induites par les racines est qualifié d'« **effet rhizosphère** ». Cet effet rhizosphère offre des opportunités pour le développement de systèmes de culture agroécologiques forts et multifonctionnels ([Philippot et al. 2013](#), [Adl 2016](#), [Faucon et al. 2017](#), [Preece and Peñuelas 2020](#), [Oburger et al. 2022](#)). En effet, l'effet rhizosphère est impliqué dans la nutrition ([Hinsinger et al. 2009](#), [Dotaniya and Meena 2015](#), [de la Fuente Cantó et al. 2020](#)) et la santé des plantes ([Berendsen et al. 2012](#), [Wallenstein 2017](#)). Cependant, la conception de systèmes de culture favorisant les interactions entre les différentes composantes de la rhizosphère assurant la fourniture de fonctions écologiques et *in fine*, les services écosystémiques rendus par l'agroécosystème, est encore peu développée car l'étude de la rhizosphère est complexe. Il est donc nécessaire de développer les connaissances sur ce compartiment et d'identifier celles pouvant contribuer à la reconception des systèmes de cultures. Si des développements sont en cours en matière de création variétale ou de produits de biostimulation ([Ryan et al. 2009](#), [Martin and Isaac 2015](#), [Gopal and Gupta 2016](#), [Wallenstein 2017](#), [Backer et al. 2018](#), [Salomon et al. 2022](#)), le passage à l'échelle de la conception de systèmes est encore à ses débuts. Cette thèse vise à produire des connaissances sur le fonctionnement de la rhizosphère en parcelles agricoles afin de déterminer si cette interface peut être pilotée dès à présent par les pratiques agricoles, afin de contribuer à la reconception de systèmes de culture agroécologiques à forte diversité végétale favorisant les performances des plantes.

- Adl, S. 2016. Rhizosphere, food security, and climate change: A critical role for plant-soil research. *Rhizosphere* **1**:1-3. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2016.08.005>
- Backer, R., J. S. Rokem, G. Ilangumaran, J. Lamont, D. Praslickova, E. Ricci, S. Subramanian, and D. L. Smith. 2018. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture. *Frontiers in Plant Science* **9**. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01473>
- Berendsen, R. L., C. M. J. Pieterse, and P. Bakker. 2012. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science* **17**:478-486. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>
- Campbell, B. M., D. J. Beare, E. M. Bennett, J. M. Hall-Spencer, J. S. I. Ingram, F. Jaramillo, R. Ortiz, N. Ramankutty, J. A. Sayer, and D. Shindell. 2017. Agriculture production as a major driver of the Earth system exceeding planetary boundaries. *Ecology and Society* **22**. <https://doi.org/10.5751/ES-09595-220408>
- Caquet, T., C. Gascuel, and M. Tixier-Boichard. 2020. Agroécologie : des recherches pour la transition des filières et des territoires E. Quaé. <https://www.quae-open.com/extract/465>
- Carof, M., O. Godinot, and E. Le Cadre. 2022. Biodiversity-based cropping systems: A long-term perspective is necessary. *Science of the Total Environment* **838**:156022. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156022>
- Cordell, D., and S. White. 2014. Life's Bottleneck: Sustaining the World's Phosphorus for a Food Secure Future. *Annual Review of Environment and Resources* **39**:161-188. <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-010213-113300>
- Curl, E. A., and B. Truelove. 1986. *The Rhizosphere*. Springer Berlin Heidelberg.
- de la Fuente Cantó, C., M. Simonin, E. King, L. Moulin, M. J. Bennett, G. Castrillo, and L. Laplaze. 2020. An extended root phenotype: the rhizosphere, its formation and impacts on plant fitness. *Plant Journal* **103**:951-964. <https://doi.org/10.1111/tpj.14781>
- Dotaniya, M. L., and V. D. Meena. 2015. Rhizosphere Effect on Nutrient Availability in Soil and Its Uptake by Plants: A Review. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences* **85**:1-12. <https://doi.org/10.1007/s40011-013-0297-0>
- Dudley, N., and S. Alexander. 2017. Agriculture and biodiversity: a review. *Biodiversity* **18**:45-49. <https://doi.org/10.1080/14888386.2017.1351892>
- Duru, M., O. Therond, and M. Fares. 2015a. Designing agroecological transitions; A review. *Agronomy for Sustainable Development* **35**:1237-1257. <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0318-x>
- Duru, M., O. Therond, G. Martin, R. Martin-Clouaire, M.-A. Magne, E. Justes, E.-P. Journet, J.-N. Aubertot, S. Savary, J.-E. Bergez, and J. P. Sarthou. 2015b. How to implement biodiversity-based agriculture to enhance ecosystem services: a review. *Agronomy for Sustainable Development* **35**:1259-1281. <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0306-1>
- Emmerson, M., M. B. Morales, J. J. Oñate, P. Batáry, F. Berendse, J. Liira, T. Aavik, I. Guerrero, R. Bommarco, S. Eggers, T. Pärt, T. Tschardtke, W. Weisser, L. Clement, and J. Bengtsson. 2016. Chapter Two - How Agricultural Intensification Affects Biodiversity and Ecosystem Services. Pages 43-97 in A. J. Dumbrell, R. L. Kordas, and G. Woodward, editors. *Advances in Ecological Research*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.aecr.2016.08.005>
- FAO. 2009. Glossary on organic agriculture. Food and Agriculture Organization. FAO Rome (ITA).
- Faucon, M. P., D. Houben, and H. Lambers. 2017. Plant Functional Traits: Soil and Ecosystem Services. *Trends in Plant Science* **22**:385-394. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.01.005>
- Foley, J. A., N. Ramankutty, K. A. Brauman, E. S. Cassidy, J. S. Gerber, M. Johnston, N. D. Mueller, C. O'Connell, D. K. Ray, P. C. West, C. Balzer, E. M. Bennett, S. R. Carpenter, J. Hill, C. Monfreda, S. Polasky, J. Rockström, J. Sheehan, S. Siebert, D. Tilman, and D. P. M. Zaks. 2011. Solutions for a cultivated planet. *Nature* **478**:337-342. <https://doi.org/10.1038/nature10452>
- Godfray, H. C. J. 2014. The challenge of feeding 9–10 billion people equitably and sustainably. *The Journal of Agricultural Science* **152**:2-8. <https://doi.org/10.1017/S0021859613000774>
- Gopal, M., and A. Gupta. 2016. Microbiome Selection Could Spur Next-Generation Plant Breeding Strategies. *Frontiers in Microbiology* **7**:1971. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01971>

- Hinsinger, P., A. G. Bengough, D. Vetterlein, and I. M. Young. 2009. Rhizosphere: biophysics, biogeochemistry and ecological relevance. *Plant and Soil* **321**:117-152. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9885-9>
- IPBES. 2019. Global assessment report on biodiversity and ecosystem services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. E. S. Brondizio, J. Settele, S. Díaz, and H. T. Ngo. IPBES secretariat, Bonn, Germany. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3831673>
- IPCC. 2019. Technical Summary *in* J. S. P.R. Shukla, E. Calvo Buendia, V. Masson-Delmotte, H.-O. Pörtner, D. C. Roberts, P. Zhai, R. Slade, S. Connors, R. van Diemen, M. Ferrat, E. Haughey, S. Luz, S. Neogi, M. Pathak, J. Petzold, J. Portugal Pereira, P. Vyas, E. Huntley, K. Kissick, M. Belkacemi, J. Malley, editor. *Climate Change and Land: an IPCC special report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems.*
- Jacquet, F., M.-H. Jeuffroy, J. Jouan, E. Le Cadre-Barthélemy, I. Litrico, M. Thibaud, X. Reboud, X., and C. Huyghe. 2022. Pesticide-free agriculture as a new paradigm for research. *J Agronomy for Sustainable Development* **42**. <https://doi.org/10.1007/s13593-021-00742-8>
- Lemaire, G., L. Tang, G. Bélanger, Y. Zhu, and M.-H. Jeuffroy. 2021. Forward new paradigms for crop mineral nutrition and fertilization towards sustainable agriculture. *European Journal of Agronomy* **125**:126248. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2021.126248>
- MacLaren, C., A. Mead, D. Balen, L. Claessens, A. Etana, J. Haan, W. Haagsma, O. Jäck, T. Keller, J. Labuschagne, Å. Myrbeck, M. Nepalova, G. Nziguheba, J. Six, J. Strauss, P. Swanepoel, C. Thierfelder, C. Topp, F. Tshuma, and J. Storkey. 2022. Long-term evidence for ecological intensification as a pathway to sustainable agriculture. *Nature Sustainability* **5**:1-10. <https://doi.org/10.1038/s41893-022-00911-x>
- Martin, A. R., and M. E. Isaac. 2015. Plant functional traits in agroecosystems: a blueprint for research. *Journal of Applied Ecology* **52**:1425-1435. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12526>
- Millenium Ecosystem Assessment. 2005. *Ecosystems and human well-being-Synthesis: A report of the Millennium Ecosystem Assessment.* Island Press, Washington, DC.
- Oburger, E., H. Schmidt, and C. Staudinger. 2022. Harnessing belowground processes for sustainable intensification of agricultural systems. *Plant and Soil* **478**:177-209. <https://doi.org/10.1007/s11104-022-05508-z>
- Persson, L., B. M. Carney Almroth, C. D. Collins, S. Cornell, C. A. de Wit, M. L. Diamond, P. Fantke, M. Hassellöv, M. MacLeod, M. W. Ryberg, P. Sjøgaard Jørgensen, P. Villarrubia-Gómez, Z. Wang, and M. Z. Hauschild. 2022. Outside the Safe Operating Space of the Planetary Boundary for Novel Entities. *Environmental Science & Technology* **56**:1510-1521. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c04158>
- Philippot, L., J. M. Raaijmakers, P. Lemanceau, and W. H. van der Putten. 2013. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology* **11**:789-799. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3109>
- Preece, C., and J. Peñuelas. 2020. A Return to the Wild: Root Exudates and Food Security. *Trends in Plant Science* **25**:14-21. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.09.010>
- Ricciardi, V., Z. Mehrabi, H. Wittman, D. James, and N. Ramankutty. 2021. Higher yields and more biodiversity on smaller farms. *Nature Sustainability* **4**:651-657. <https://doi.org/10.1038/s41893-021-00699-2>
- Robertson, G. P., and P. M. Vitousek. 2009. Nitrogen in Agriculture: Balancing the Cost of an Essential Resource. *Annual Review of Environment and Resources* **34**:97-125. <https://doi.org/10.1146/annurev.enviro.032108.105046>
- Rockström, J., W. Steffen, K. Noone, Å. Persson, F. S. Chapin, E. F. Lambin, T. M. Lenton, M. Scheffer, C. Folke, H. J. Schellnhuber, B. Nykvist, C. A. de Wit, T. Hughes, S. van der Leeuw, H. Rodhe, S. Sörlin, P. K. Snyder, R. Costanza, U. Svedin, M. Falkenmark, L. Karlberg, R. W. Corell, V. J. Fabry, J. Hansen, B. Walker, D. Liverman, K. Richardson, P. Crutzen, and J. A. Foley. 2009. A safe operating space for humanity. *Nature* **461**:472-475. <https://doi.org/10.1038/461472a>

Introduction

- Ryan, P. R., Y. Dessaux, L. S. Thomashow, and D. M. Weller. 2009. Rhizosphere engineering and management for sustainable agriculture. *Plant and Soil* **321**:363-383. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0001-6>
- Salomon, M. J., S. J. Watts-Williams, M. J. McLaughlin, H. Bücking, B. K. Singh, I. Hutter, C. Schneider, F. M. Martin, M. Vosatka, L. Guo, T. Ezawa, M. Saito, S. Declerck, Y.-G. Zhu, T. Bowles, L. K. Abbott, F. A. Smith, T. R. Cavagnaro, and M. G. A. van der Heijden. 2022. Establishing a quality management framework for commercial inoculants containing arbuscular mycorrhizal fungi. *iScience* **25**:104636. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104636>
- Steffen, W., K. Richardson, J. Rockström, S. Cornell, I. Fetzer, E. Bennett, R. Biggs, S. Carpenter, W. Vries, C. de Wit, C. Folke, D. Gerten, J. Heinke, L. Persson, V. Ramanathan, B. Reyers, and S. Sörlin. 2015. 'Planetary Boundaries: Guiding Human Development on a Changing Planet'. *Science*. <https://doi.org/10.1126/science.1259855>
- Stoate, C., N. D. Boatman, R. J. Borralho, C. R. Carvalho, G. R. d. Snoo, and P. Eden. 2001. Ecological impacts of arable intensification in Europe. *Journal of Environmental Management* **63**:337-365. <https://doi.org/10.1006/jema.2001.0473>
- Sutton, M. A., O. Oenema, J. W. Erisman, A. Leip, H. van Grinsven, and W. Winiwarter. 2011. Too much of a good thing. *Nature* **472**:159-161. <https://doi.org/10.1038/472159a>
- United Nations. 2022 World Population Prospects 2022: Summary of Results. Department of Economic and Social Affairs, Population Division UN DESA/POP/2022/TR/NO. 3.
- van Dijk, M., T. Morley, M. L. Rau, and Y. Saghai. 2021. A meta-analysis of projected global food demand and population at risk of hunger for the period 2010–2050. *Nature Food* **2**:494-501. <https://doi.org/10.1038/s43016-021-00322-9>
- Vermeulen, S. J., B. M. Campbell, and J. S. I. Ingram. 2012. Climate Change and Food Systems. *Annual Review of Environment and Resources* **37**:195-222. <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-020411-130608>
- Wallenstein, M. D. 2017. Managing and manipulating the rhizosphere microbiome for plant health: A systems approach. *Rhizosphere* **3**:230-232. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2017.04.004>
- Wezel, A., B. G. Herren, R. B. Kerr, E. Barrios, A. L. R. Gonçalves, and F. Sinclair. 2020. Agroecological principles and elements and their implications for transitioning to sustainable food systems. A review. *Agronomy for Sustainable Development* **40**:40. <https://doi.org/10.1007/s13593-020-00646-z>

Cadre professionnel de la thèse

La chaire *Agriculture Ecologiquement Intensive* créée en 2012 et reconduite en 2017 pour 5 années supplémentaires regroupait trois coopératives agricoles du Grand Ouest (Agrial, Eureden et Terrena), trois écoles d'agronomie (ESA Angers, l'Institut Agro Rennes-Angers et Oniris Nantes) et l'INRAE. Lors du second mandat, les objectifs étaient (1) de poursuivre les travaux de recherche d'amont dans le champ de l'agroécologie mais aussi (2) de développer des processus d'innovation permettant d'élaborer des solutions opérationnelles pour les producteurs. Ces coopératives comptent entre 12 000 et 21 000 adhérent.es toutes filières agricoles confondues et sont représentatives de l'agriculture menée sur le territoire. Elles ont un chiffre d'affaires de plusieurs milliards d'euros et une forte présence sur le territoire. Ces trois coopératives ont chacune un service de Recherche et Développement, menant des recherches amont avec les organismes nationaux de recherche et également aval avec les agriculteurs. Ainsi, la chaire Agriculture Ecologiquement Intensive revêt un caractère unique en matière de potentiel de recherche et d'innovation au service de la transition en France. Au cours de son mandat achevé en juin 2022, elle avait ainsi financé plusieurs thèses, des postdocs et des stages de M2 sur des sujets variés. Le sujet de thèse se situe dans l'axe Rhizosphère de la chaire et a bénéficié d'un financement CIFRE ANRT n°2019/0828. Cet axe formulé lors de la phase 2 de la chaire (2017-2022) avait pour ambition de mieux connaître le fonctionnement des interactions sol-plante-microorganismes au niveau la rhizosphère pour contribuer au pilotage de systèmes de cultures performants et durables. Le financement CIFRE a été hébergé par la société Eureden, au sein du service Eureden Innovation, avec un contrat mentionnant une visite mensuelle dans les locaux d'Eureden. L'essentiel des travaux de thèse ont été réalisés au sein du laboratoire Sol AgroHydrosystèmes Spatialisation (UMR SAS 1069) de l'INRAE à Rennes. La dimension appliquée occupe une place importante dans cette thèse qui s'appuie sur une collaboration étroite avec un important réseau d'agriculteurs partenaires. En effet, la démonstration de la causalité (voir partie 5 Etat de l'art) en parcelles agricoles cultivées permet de diffuser les connaissances auprès des agriculteurs et de promouvoir de nouvelles approches au sein des différentes coopératives. D'un point de vue académique, l'intérêt de cette collaboration est de se rapprocher des attentes du terrain et de développer des méthodes scientifiques pertinentes pour le secteur agricole. Ainsi, ce projet vise à produire et transférer les connaissances acquises sur la rhizosphère et fournir un nouveau cadre d'analyse aux coopératives.

Chapitre 1

Etat de l'art

1. Transition agroécologique et fonctions écologiques de la rhizosphère

1.1. L'agroécologie : un changement de paradigme

L'agroécologie est une discipline scientifique qui étudie les interactions écologiques des agroécosystèmes afin de fournir des services écosystémiques ([Tibi and Therond 2018](#), [Caquet et al. 2020](#), [Wezel et al. 2020](#)). Ainsi, l'agroécologie vise à limiter les externalités négatives de l'agriculture en substituant l'utilisation d'intrants par la promotion de processus biologiques de l'agroécosystème ([Tilman et al. 2011](#), [Jacquet et al. 2022](#)) et à renforcer la résilience des agroécosystèmes ([Córdoba et al. 2020](#)). Pour cela, la promotion de la diversité fonctionnelle et spécifique est associée à une amélioration de la fourniture de services écosystémiques permettant de satisfaire les objectifs de productivité agricole et de durabilité environnementale ([Bommarco et al. 2013](#), [Tittone 2014](#), [Tamburini et al. 2020](#)). L'ensemble des plantes introduites intentionnellement par les agriculteur.rices dans l'écosystème agricole (*i.e.*, les choix relatifs aux successions de cultures et aux associations d'espèces) constituent la biodiversité planifiée. Indirectement, ces choix influencent la biodiversité associée qui inclut la flore adventice des cultures, les organismes du sol (macro- et méso-faune endogée, communautés microbiennes du sol), et la macro- et méso- faune épigée et aérienne qui circule dans l'environnement proche de la parcelle ([Tibi and Therond 2018](#)). Ainsi, ces deux types de biodiversité permettent de substituer nombre d'intrants chimiques par les processus biologiques de l'agroécosystème, en particulier grâce à ceux se déroulant dans les sols ([Duru et al. 2015](#), [Lemanceau et al. 2015](#), [Oburger et al. 2022](#)). Parmi les interactions écologiques se déroulant dans les sols, celles entre les systèmes racinaires et les sols, dans la rhizosphère, semblent particulièrement prometteuses pour la conception de systèmes de cultures agroécologiques ([Dias et al. 2015](#), [Kuzakov and Blagodatskaya 2015](#)). **Afin de concevoir des systèmes agroécologiques, il est nécessaire de développer des connaissances permettant de définir le choix des cultures et des pratiques menées dans une logique, et ordonnée dans le temps, c'est à dire au niveau du système de culture** ([Sebillotte 1990](#)).

1.2. Définition de la rhizosphère

1.2.1. Représentation de la rhizosphère

La rhizosphère correspond au volume de sol au voisinage de racines vivantes et influencé par leur activité au cours du développement des plantes ([Hiltner 1904](#), [Lynch 1994](#)). Ce compartiment du sol se divise en trois zones distinctes (Figure 1.1) :

- l'ectorrhizosphère (ou sol rhizosphérique) est généralement représenté par le sol adhérent aux racines,

- le rhizoplan définit la surface des racines (épiderme) en contact avec les particules de sol et
- l'endorhizosphère correspond aux tissus racinaires internes (endoderme et cellules corticales).

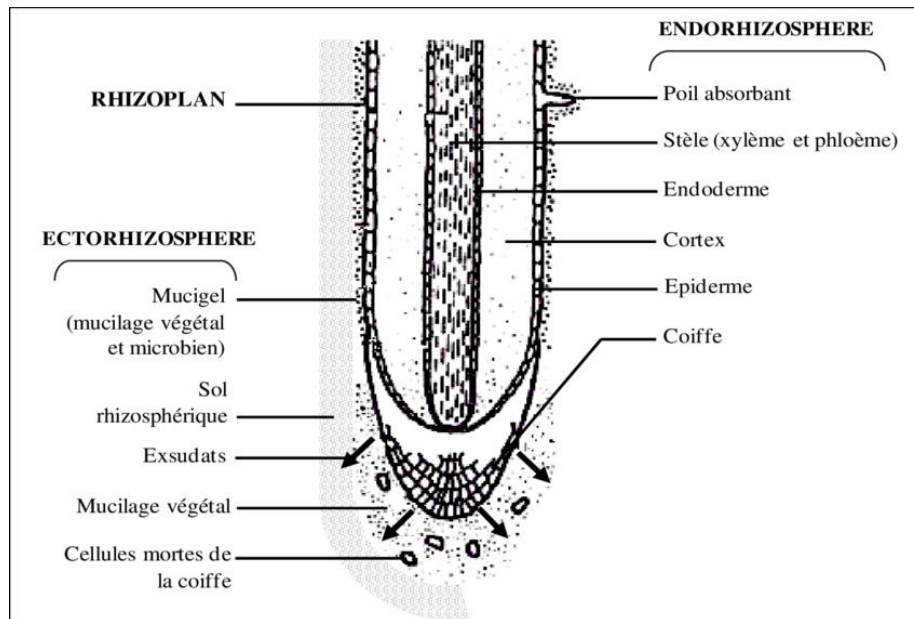


Figure 1.1 : Représentation schématique des trois zones de la rhizosphère. Tiré de la thèse de [Lepinay \(2013\)](#).

La rhizosphère se distingue du sol non influencé par les racines, appelé sol entier. La rhizosphère est un compartiment du sol qui se caractérise par la modification des propriétés chimiques, physiques et biologiques du sol par la plante. Ces modifications peuvent être causées directement par les racines sur le sol ou indirectement *via* l'influence des racines sur les communautés microbiennes de la rhizosphère ([Bowen and Rovira 1999](#)). Les modifications des propriétés du sol rhizosphérique confèrent en retour, un fonctionnement différent comparé au sol non influencé par l'activité des racines, appelé « **effet rhizosphère** » ([Rouatt et al. 1960](#), [Bowen and Rovira 1999](#), [Morgan and Whipps 2000](#), [Hinsinger et al. 2005](#)).

1.2.2. Modifications des propriétés chimiques

L'absorption des nutriments par les racines est à l'origine d'un gradient d'épuisement des ressources dans la rhizosphère par rapport au sol entier pour le phosphore, l'azote, le potassium et certains oligo-éléments ([Hinsinger 2001](#), [Vetterlein and Jahn 2004](#), [Hinsinger et al. 2011](#), [Hinsinger et al. 2021](#), [Wang et al. 2022](#)). La modification des propriétés chimiques de la rhizosphère résulte également de la libération d'une grande diversité et quantité de composés organiques dans la rhizosphère (Figure 1.2).

Ce processus, appelé rhizodéposition, peut se diviser en trois processus distincts (Nguyen 2009) : la libération d'exsudats racinaires sécrétés par les cellules racinaires (enzymes et métabolites primaires et secondaires), la libération de mucilages et la libération de composés lors de la sénescence de cellules racinaires, notamment de la coiffe (Lynch and Whipps 1990). La libération de ces composés modifie les équilibres chimiques au sein de la rhizosphère par rapport au sol entier. En effet, la libération d'acides carboxyliques sous forme d'anions (malate, citrate, ...) et de protons H^+ ou d'ions hydroxyle OH^- modifie le pH de la rhizosphère par rapport au sol entier (Hinsinger 2001). De plus, la libération de ces ions modifie le potentiel d'oxydo-réduction de la rhizosphère, notamment responsable de la réduction des ions Fe^{3+} (Hinsinger et al. 2003). Parmi les composés organiques libérés par rhizodéposition, les racines sécrètent également des enzymes qui modifient les cycles biogéochimiques de la rhizosphère (Nannipieri et al. 2011). Grâce à ces processus de modification du pH et de libération d'enzymes extracellulaires, la disponibilité des nutriments varie dans le compartiment de la rhizosphère par rapport au sol entier (Kuzyakov and Razavi 2019). Certains éléments peuvent également s'accumuler dans la rhizosphère (Hinsinger et al. 2003). Enfin, la teneur en eau dans la rhizosphère est modifiée par rapport au sol entier (Chapman et al. 2012) et la respiration racinaire modifie la composition gazeuse (Keltling et al. 1998).

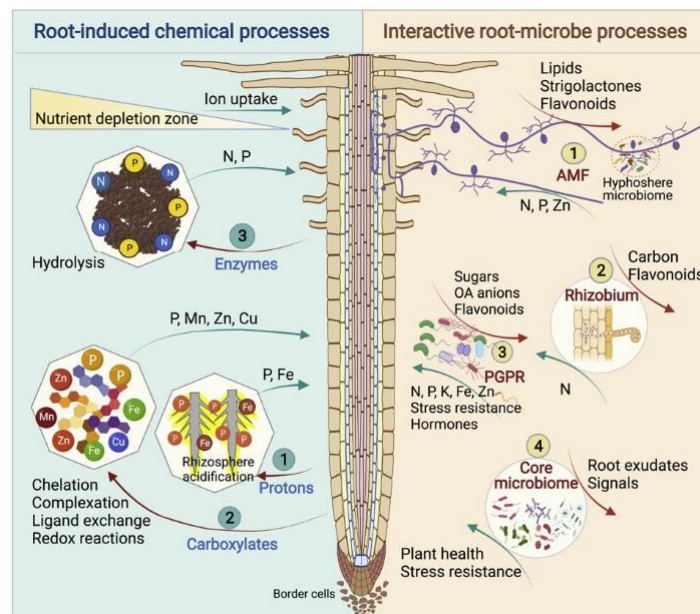


Figure 1.2 : Processus chimiques induits par les racines (à gauche) et processus biochimiques induits par les interactions sol-microorganismes (à droite) dans la rhizosphère. AMF : mycorhizes arbusculaires ; PGPR : bactéries promotrices de la croissance des plantes. Issue de Wang et al. (2022) iScience 25 : 104168.

1.2.3. Modifications des propriétés biologiques par rhizodéposition

Les plantes sont des organismes autotrophes qui synthétisent leur propre matière organique grâce à la photosynthèse et libèrent une partie du carbone assimilé par les racines dans la rhizosphère ([Jones et al. 2009](#))(Figure 1.2). Ce carbone constitue une source de carbone soluble, facilement assimilable dans les sols comparée à la matière organique du sol ([Lynch and Whipps 1990](#)). Ces exsudats racinaires agissent comme des signaux chimiques entre la racine et les communautés microbiennes du sol ([Bais et al. 2006](#), [Venturi and Keel 2016](#)). Ces signaux chimiques peuvent être à l'origine de l'attraction ou l'inhibition de la croissance de microorganismes spécifiques dans la rhizosphère ([Berendsen et al. 2012](#), [Ling et al. 2022](#)). Par exemple, les exsudats peuvent permettre l'établissement de symbioses avec les communautés microbiennes du sol ([Hugoni et al. 2018](#)) mais également le contrôle de certains pathogènes ([Doornbos et al. 2012](#), [Bakker et al. 2013](#), [Fan et al. 2018a](#), [Trivedi et al. 2020](#))(Figure 1.2). Cette interaction trophique entre les plantes et les microorganismes du sol est à la base du fonctionnement des processus biologiques de la rhizosphère par rapport au sol entier ([Watt et al. 2006](#), [Finzi et al. 2015](#)). Le carbone soluble libéré par les racines permet l'établissement d'une communauté microbienne spécifique de la rhizosphère, appelée **microbiome rhizosphérique**. Le microbiome rhizosphérique est donc constitué à partir du réservoir de microorganismes présents dans les sols ([Hartmann et al. 2009](#), [Dennis et al. 2010](#)) et des modifications induites par les plantes qui agissent comme un filtre environnemental par rapport au sol entier ([Poole 2017](#), [Chen et al. 2019b](#)). Les communautés microbiennes hétérotrophes du sol vont utiliser les exsudats racinaires (acides aminés et organiques, sucres simples, phénols et métabolites secondaires) comme source d'énergie et vont ainsi coloniser la rhizosphère ([Fischer et al. 2010](#)). Cette communauté présente en outre une activité et une abondance très supérieure dans la rhizosphère par rapport au sol entier ([de Vries et al. 2012](#), [Schmidt et al. 2019](#))(Figure 1.3). En effet, la production d'enzymes extracellulaires d'origine microbienne, la respiration et la biomasse microbienne sont alors accrues dans la rhizosphère par rapport au sol entier ([Joshi et al. 2018](#)). Selon la théorie de la stœchiométrie enzymatique ([Zechmeister-Boltenstern et al. 2015](#)), les microorganismes libèrent des enzymes extracellulaires en réponse à une limitation en éléments nécessaires à leur métabolisme. De plus, les enzymes cellulaires peuvent être libérées au cours de la lyse des cellules microbiennes, notamment au cours de la prédation par d'autres organismes comme les nématodes bactéricivores ([Bonkowski et al. 2000](#), [Chen et al. 2007](#), [Trap et al. 2016](#)). Ainsi, la transformation de la matière organique par les enzymes extracellulaires peut augmenter la disponibilité des nutriments dans la rhizosphère par rapport au sol entier ([Irshad et al. 2011](#), [Tian et al. 2020](#)). De plus, ces modifications de la diversité, de l'abondance et de l'activité des communautés microbiennes modifient les interactions biologiques entre les

communautés microbiennes de la rhizosphère par rapport au sol entier ([van der Heijden and Hartmann 2016](#), [de Vries and Wallenstein 2017](#), [Fan et al. 2017](#)).

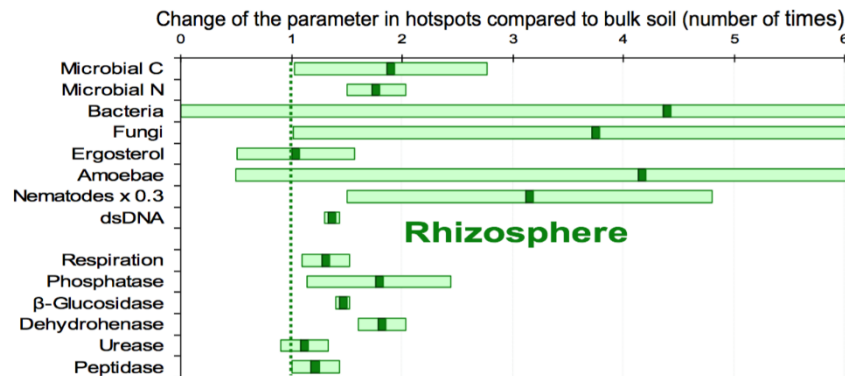


Figure 1.3 : Résultats d'une méta-analyse représentant la modification des paramètres biologiques dans la rhizosphère par rapport au sol entier, traduisant ainsi un effet rhizosphère (moyennes \pm écart-type). Les paramètres étudiés sont la biomasse microbienne (Microbial C et N), l'abondance des communautés bactériennes et fongiques, la concentration en ergosterol, l'abondance faunique (amibes et nématodes), la quantité d'ADN et l'activité biologique du sol caractérisée par la respiration et la Vmax de cinq enzymes. La ligne verticale en pointillés correspond à l'absence d'effet rhizosphère. Tiré de [Kuz'yakov and Blagodat'skaya \(2015\)](#) *Soil Biology and Biochemistry* 83 :184-199.

1.2.4. Modification des propriétés physiques

Les propriétés physiques de la rhizosphère sont modifiées par rapport au sol entier. En effet, la croissance des racines modifie l'arrangement des particules de sol et donc la compaction à l'interface sol-plante ([Koebernick et al. 2019](#), [Landl et al. 2021](#)). Cette compaction est à l'origine d'une réduction de la porosité de la rhizosphère à une échelle de résolution de l'ordre du millimètre ([Young 1998](#)), tandis que la microporosité du sol (μm) augmente à proximité des racines ([Feeney et al. 2006](#), [Helliwell et al. 2019](#)). De plus, l'exsudation de mucilages modifie les propriétés physiques et hydrauliques de la rhizosphère telle que la rétention de l'eau ([Read and Gregory 1997](#), [Carminati and Vetterlein 2013](#), [Benard et al. 2019](#)) et favorise la pénétration des racines dans un sol compacté ([Oleghe et al. 2017](#)). L'activité des racines dans la rhizosphère modifie également la stabilité des agrégats, en particulier grâce à la libération de mucilages, également produits par les communautés microbiennes de la rhizosphère ([Morel et al. 1991](#), [Amellal et al. 1998](#), [Koebernick et al. 2019](#)). La modification de ces propriétés physiques influencent la diffusion et le flux de masse, deux processus qui déterminent le transfert des nutriments et de l'eau dans les sols ([Tinker and Nye 2000](#), [Oyewole et al. 2014](#)).

1.3. Dynamique spatio-temporelle de l'effet rhizosphère

1.3.1. Gradients de l'effet rhizosphère

La rhizosphère est un compartiment dynamique où les modifications des propriétés des sols se matérialisent par l'établissement de gradients qui varient selon le paramètre considéré ([Kuzyakov and Larionova 2005](#), [Kuzyakov and Razavi 2019](#))(Figure 1.4). Les différents gradients peuvent être caractérisés par leur intensité, leur taille ou leur durée de persistance dans les sols. L'intensité des gradients correspond à la différence observée entre les deux extrémités du gradient et varie selon l'influence que la racine exerce sur le paramètre considéré à un instant donné. La taille d'un gradient dans la rhizosphère correspond à la distance entre les deux extrémités du gradient à savoir depuis la surface de la racine jusqu'à la modification négligeable des propriétés du sol par la racine (Figure 1.4). La distance d'influence de la racine correspond à la fois (i) aux processus de rhizodéposition par la racine ([Nguyen 2009](#)), (ii) à la libération de composés volatiles et les échanges gazeux de la respiration racinaire et microbienne ([Kuzyakov and Razavi 2019](#)), (iii) aux profils de concentration des nutriments et de l'eau ([Richardson et al. 2009](#), [Carminati and Vetterlein 2013](#), [Carminati et al. 2016](#)), (iv) à la diversité et la structure des communautés microbiennes ([Chen et al. 2016](#), [Munoz-Ucros et al. 2021](#)) et (v) à l'augmentation de la minéralisation de la matière organique par la libération d'enzymes extracellulaires ([Wang et al. 2022](#)). Ainsi, la taille des gradients peut varier de quelques micromètres à quelques centimètres selon le processus ou les propriétés considérées et listées ci-dessus ([Alvey et al. 2003](#))(Figure 1.4).

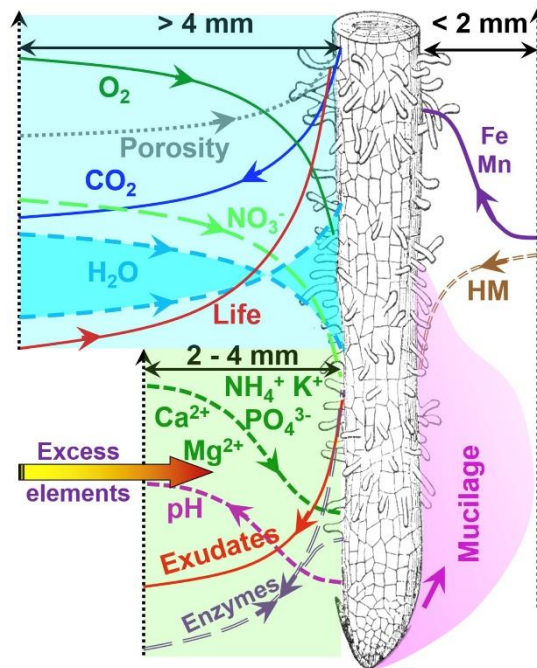


Figure 1.4 : Représentation de la distribution spatiale des principaux gradients de la rhizosphère observés en conditions contrôlées. La taille des gradients dépend des paramètres étudiés : 0,5-2 mm (à droite), 2-4 mm (en bas à gauche), et >4 mm (en haut à gauche). Chaque courbe indique une augmentation ou une réduction du paramètre étudié en fonction de la distance à la racine. Pour chaque courbe, la flèche indique le sens du gradient (vers la racine ou vers le sol). HM : métaux lourds (Zn, Cu, Ni, Co, Pb, Cd, As). Tiré de [Kuzakov and Razavi \(2019\)](#) *Soil Biology and Biochemistry* 135 :343-360.

Par exemple, le gradient d'épuisement des ions phosphates est estimé de l'ordre du millimètre alors que pour les ions nitrates, il est de l'ordre de 1-2 centimètres ([Hinsinger et al. 2005](#)). Pour ces composés, cette différence s'explique par les processus de transport des nutriments vers la racine. En effet, les nutriments dissous dans la solution du sol se déplacent vers la racine par des processus de diffusion et de flux de masse qui varient selon la mobilité des nutriments dans le sol ([Bray 1954](#), [Barber et al. 1963](#)) et la réactivité des éléments avec les constituants du sol ([Hinsinger et al. 2011](#)). De forte réactivité avec les constituants du sol, les ions phosphates sont peu mobiles dans les sols et forment un gradient plus petit que pour les nitrates, composés plus mobiles dans la solution du sol car moins réactifs ([Hinsinger et al. 2011](#)). Les échanges gazeux de la respiration racinaire et microbienne forment des gradients dont la taille s'étend sur plusieurs centimètres ([Blossfeld et al. 2013](#)) (Figure 1.5). De plus, les gradients de O₂ et CO₂ autour de la racine se forment dans des sens opposés avec la libération de CO₂ et l'absorption de O₂ dans la rhizosphère ([Kuzakov and Larionova 2005](#)). Quant à l'eau du sol, elle est absorbée jusqu'à quelques centimètres autour des racines ([Carminati et al. 2016](#)). Les modifications du pH induites par l'activité des racines et des microorganismes peuvent être observées dans un rayon de quelques millimètres autour des racines ([Vetterlein and Jahn 2004](#), [Blossfeld et al.](#)

[2013](#))(Figure 1.5). Enfin, les racines influencent la diversité, l'activité et l'abondance des communautés microbiennes sur quelques micromètres autour des racines, dans la zone où les exsudats sont libérés ([Kuzyakov and Razavi 2019](#))(Figure 1.5). Les enzymes libérées par les racines et les microorganismes sont à l'origine d'un gradient associé à l'augmentation de l'intensité des processus biologiques à proximité des racines dont la taille varie entre 1 et 3 millimètres ([Razavi et al. 2016](#), [Guber et al. 2018](#), [Ma et al. 2018](#)). Ainsi, les travaux de ([Ma et al. 2018](#)), reposant sur la technique de zymographie, montrent une activité de $90 \text{ pmol cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ pour la phosphatase acide et de $60 \text{ pmol cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ pour la β -glucosidase au niveau du rhizoplan du blé tendre, contre une activité inférieure à $\text{pmol cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ à 1 cm de la racine. Ainsi, la minéralisation de la matière organique est accélérée dans la rhizosphère. Enfin, la durée de persistance de ces gradients est variable ([Jungk 2002](#)) car dépendante des processus qui les génèrent ([Ge et al. 2017](#)). La rhizosphère est donc un compartiment complexe, dynamique et hétérogène ([York et al. 2016](#)) car pouvant être défini par de multiples gradients chimiques, physiques et biologiques qui co-existent et qui sont interdépendants.

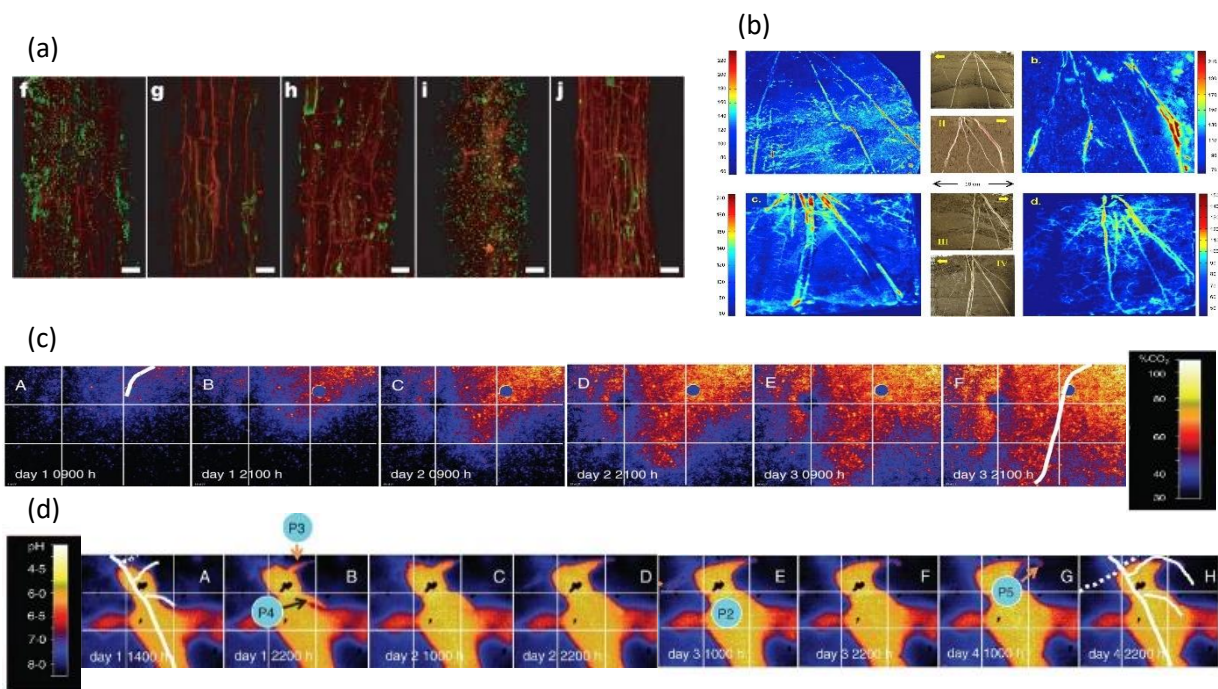


Figure 1.5 : Représentation graphique de quatre gradients de la rhizosphère observés grâce à différentes méthodes de visualisation. (a) Visualisation de cellules de différents taxons microbiens au niveau du rhizoplan d'*Arabidopsis thaliana* grâce à une méthode de détection par CARD-FISH par microscopie confocale à balayage laser. Tiré de [Bulgarelli et al. \(2012\)](#) *Nature* 488, 91–95. (b) Variation de l'activité mesurée en $\text{pmol cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ de la leucine aminopeptidase (en haut à gauche), de la phosphatase acide (en haut à droite), de la β -glucosidase (en bas à gauche) et de la cellobiohydrolase (en bas à droite) à proximité de racines de maïs (*Zea mays*) cultivé en rhizoboxes (au centre) Tiré de [Razavi et al. \(2016\)](#) *Soil Biology and Biochemistry* 96 : 229-237. (c) Evolution de la pression partielle de CO_2 au cours de la croissance d'une racine (en blanc) de *V. juncea*. (d) Evolution du pH autour de racines de pois chiche (*Cicer arietinum*) et de blé (*Triticum turgidum durum*) grâce à des optodes planaires. Tiré de [Blossfeld et al. \(2013\)](#) *Annals of Botany* 222 : 267-276.

1.3.2. Rôle des plantes

Le principal facteur de variabilité du fonctionnement de la rhizosphère est la plante elle-même ([Bulgarelli et al. 2013](#)). En effet, en modifiant la diversité et la quantité d'exsudats libérés par rhizodéposition ([Rovira 1969](#), [Gill and Jackson 2000](#), [Bever et al. 2012](#), [Haichar et al. 2014](#), [Zhalnina et al. 2018](#)), l'espèce végétale influence la diversité et l'activité des communautés microbiennes de la rhizosphère ([Berg and Smalla 2009](#), [Burns et al. 2015](#), [Ma et al. 2018](#), [Schmid et al. 2019](#), [Schneijderberg et al. 2020](#)). Il convient de distinguer les plantes par groupe fonctionnel pour expliquer les propriétés de la rhizosphère par la quantité et la diversité des exsudats libérés ([Liu et al. 2022b](#)). Par exemple, les légumineuses libèrent des composés organiques simples (flavonoïdes) permettant de recruter des rhizobactéries fixatrices d'azote ([Hassan and Mathesius 2012](#)). De plus, la diversité des exsudats racinaires semble plus élevée chez les légumineuses que les graminées ([Zhou et al. 2017](#)). Quant aux graminées, elles libèrent des composés organiques complexes (mucilages) qui peuvent également être utilisés comme substrat pour les communautés microbiennes ([Zhalnina et al. 2018](#), [Galloway et al. 2020](#)). Au niveau intraspécifique, le génotype d'une espèce peut influencer la diversité microbienne ([Rossmann et al. 2020](#), [Jacquiod et al. 2022](#)) et les fonctions qu'elle remplit ([Lemanceau et al. 2017](#)). Pour les variétés modernes, ou élites, les capacités de modification des propriétés de la rhizosphère sont réduites lorsqu'elles sont cultivées dans des conditions de faibles intrants ([Milla et al. 2015](#), [Matesanz and Milla 2018](#), [Pérez-Jaramillo et al. 2018](#), [Favela et al. 2021](#)). En effet, les processus de sélection variétale ont réduit la capacité des plantes à modifier les propriétés de la rhizosphère car ces variétés ont été sélectionnées à partir de leur productivité et ce, dans des conditions optimales d'intrants qui réduit la dépendance des plantes aux fonctions du sol ([Brisson et al. 2019](#)) ([Pérez-Jaramillo et al. 2016](#)). Le stade de développement des plantes modifie également le fonctionnement de la rhizosphère du colza ([Mougel et al. 2006](#)), du maïs et du blé ([Cheng et al. 2003](#), [Sun et al. 2018](#)) car la diversité et la quantité des exsudats varient selon les besoins de la plante à des stades clés du développement, ce qui lui permet de contrôler l'assemblage des communautés microbiennes et la minéralisation de la matière organique dans la rhizosphère ([Chaparro et al. 2014](#), [Sun et al. 2021b](#)). Enfin, le développement racinaire est également à l'origine d'une hétérogénéité spatiale de la rhizosphère. En effet, le type et l'âge de la racine modifient la quantité et la composition des exsudats racinaires et la zone dans laquelle ils sont libérés ([Pausch et al. 2013](#), [Kuzyakov and Razavi 2019](#)). Par exemple, l'activité des enzymes est la plus intense au niveau de l'apex racinaire ([Razavi et al. 2016](#)) tandis que la présence de poils absorbants favorise l'acquisition de l'eau et des nutriments ([López-Bucio et al. 2003](#)) et augmente l'activité enzymatique et la taille de la rhizosphère ([Holz et al. 2017](#), [Ma et al. 2018](#), [Marin et al. 2020](#)).

1.3.3. Rôle des propriétés du sol dans l'effet rhizosphère

La nature des minéraux du sol, le pH du sol ou la teneur en matière organique, sont des propriétés issues des processus pédogénétiques naturels, mais modifiées en partie par les pratiques agricoles (Bai et al. 2018). Concernant les propriétés issues des processus pédogénétiques comme la composition minéralogique ou le pH du sol, celles-ci déterminent la nature des processus chimiques à l'interface sol-solution du sol (Essington 2003) et donc en retour l'effet rhizosphérique potentiel attendu à partir des propriétés des sols (Luster et al. 2009)(Figure 1.6). Outre le pH du sol, la structure du sol modifie la diversité, l'activité et l'abondance des communautés microbiennes du sol (Fierer and Jackson 2006, Dequiedt et al. 2011, Kuramae et al. 2012, Fan et al. 2018b, Kraut-Cohen et al. 2020). D'autres facteurs abiotiques des sols comme la teneur en eau des sols et la température contrôlent l'effet rhizosphère. En effet, la teneur en eau des sols influence les processus de diffusion des nutriments, les flux de masse et la minéralisation de la matière organique (Chapman et al. 2012, Steinweg et al. 2012, A'Bear et al. 2014, Gomez et al. 2020, Kuppe et al. 2022).

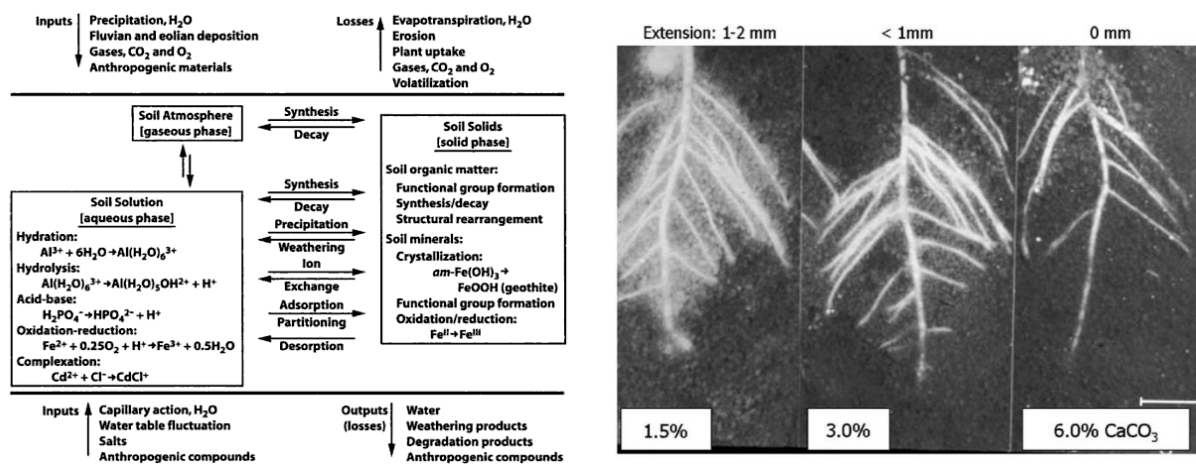


Figure 1.6 : A gauche : Diversité des processus chimiques contrôlant la disponibilité environnementale des éléments. La nature des minéraux du sol et leur quantité conditionne les processus à l'interface sol plante. Issu de Essington (2003) Soil and Water Chemistry: An Integrative Approach. A droite : Extension du gradient de pH induit par les racines de pois chiche (Cicer arietinum) en fonction de la teneur en CaCO3, détectée dans des rhizoboxes après imprégnation du sol avec de la gélose indicatrice de pH. Issu de Luster et al. (2009) Plant Soil 321, 457-482.

En conditions contrôlées simulant un stress hydrique, l'effet rhizosphère associé à la teneur en eau augmente au niveau de l'apex racinaire, car les propriétés de la rhizosphère, notamment grâce aux mucilages, permettent de conserver l'eau dans la rhizosphère par rapport au sol entier (Carminati et al. 2010, Carminati 2013). De plus, la capacité des plantes à modifier le pH et le potentiel d'oxydo-réduction dans la rhizosphère est influencée par la teneur en eau (Uteau et al. 2015). La température du sol, quant à elle, augmente la minéralisation de la matière organique grâce à la stimulation de

l'activité microbienne dans la rhizosphère ([Steinweg et al. 2012](#), [A'Bear et al. 2014](#), [Razavi et al. 2019](#)). Cependant, ce paramètre est rarement pris en compte dans les modèles de fonctionnement de la rhizosphère ([Kuppe et al. 2022](#)). Les successions des cultures ou les pratiques agricoles sont également susceptibles de modifier ces paramètres et propriétés des sols en perturbant les processus biologiques. En effet, la succession des cultures et le type fonctionnel des plantes, au travers de deux modes d'action directe (litière aérienne et souterraine) et indirecte (effet rhizosphère) appelées boucles de rétroaction sol-plantes ([Bartelt-Ryser et al. 2005](#), [van der Putten et al. 2013](#), [Veen et al. 2019](#)), peuvent influencer le microbiome du sol, le pH ou la quantité et le type de matière organique ([Bai et al. 2018](#)). Les pratiques agricoles modifient le réservoir de microorganismes initialement présents dans les sols à partir duquel la plante sélectionne le microbiome spécifique de la rhizosphère ([Tsiafouli et al. 2015](#), [Schmidt et al. 2019](#)). Elles modifient également l'organisation des communautés microbiennes du sol en stimulant ou perturbant le réseau d'interactions trophiques qui a lieu dans le sol ([Ling et al. 2016](#)).

Pour résumer, les racines remplissent des fonctions directement ou indirectement responsables d'une modification des processus biologiques, chimiques et physiques qui se traduisent par l'apparition d'un effet rhizosphère mesurable pour une diversité de paramètres. Les plantes modifient les propriétés du sol dans une gamme déterminée à partir des caractéristiques initiales des sols. Par conséquent, l'analyse de sol ou les démarches de qualité des sols restent essentielles pour déterminer cette gamme d'effet rhizosphère potentiel.

2. Contribution de la rhizosphère à la nutrition et santé des plantes

2.1. Nutrition des plantes

Dans la rhizosphère, les racines prélèvent de l'eau ainsi que six macro-éléments (N, K, P, S, Mg et Ca) et 8 oligo-éléments (B, Cl, Cu, Fe, Mn Mo, Ni et Zn) principalement sous forme d'ions à partir de la solution du sol ([Marschner and Rengel 2012](#)). Toute modification des processus chimiques de sorption, désorption, précipitation et dissolution des nutriments dans la solution du sol par l'exsudation ([Hinsinger et al. 2011](#), [Sposito 2016](#)) ou par la modification du pH et du potentiel d'oxydo-réduction du sol en réponse à une carence en nutriments ([Jones and Brassington 1998](#), [Lambers et al. 2008](#), [Hinsinger et al. 2009](#), [Hinsinger et al. 2011](#), [Kumar et al. 2019](#)) influencent la disponibilité environnementale des éléments dans la rhizosphère ([Hinsinger 2001](#), [Rengel and Marschner 2005](#), [Lemanceau et al. 2009](#))(Figure 1.7). Par exemple, l'acidification de la rhizosphère est responsable de la solubilisation d'éléments minéraux dans la solution du sol et augmente la disponibilité des nutriments pour les plantes ([Hinsinger 2001](#), [Rengel and Marschner 2005](#)). L'exsudation d'acides carboxyliques par les graminées ou les microorganismes sont des chélateurs permettant de fixer le fer et autres éléments de la solution du sol afin d'améliorer leur biodisponibilité ([Lemanceau et al. 2009](#))(Figure

1.7). Les communautés microbiennes symbiotiques et non-symbiotiques de la rhizosphère favorisent également la disponibilité des nutriments ([van der Heijden et al. 2008](#), [Jacoby et al. 2017](#)) par l'augmentation de l'activité enzymatique ([Badalucco and Nannipieri 2007](#), [Kuzyakov and Razavi 2019](#)). Par exemple, près de 98% de l'azote du sol présent sous forme de polymères organiques complexes (enzymes, acides nucléiques, chitine), sont transformés par les enzymes d'origine microbienne ([Schimel and Bennett 2004](#)). Ces composés sont ensuite absorbés par les communautés microbiennes comme source d'énergie ou minéralisés par d'autres enzymes qui permettent d'augmenter la disponibilité de l'azote minéral pour les plantes ([Vance et al. 2003](#))(Figure 1.7).

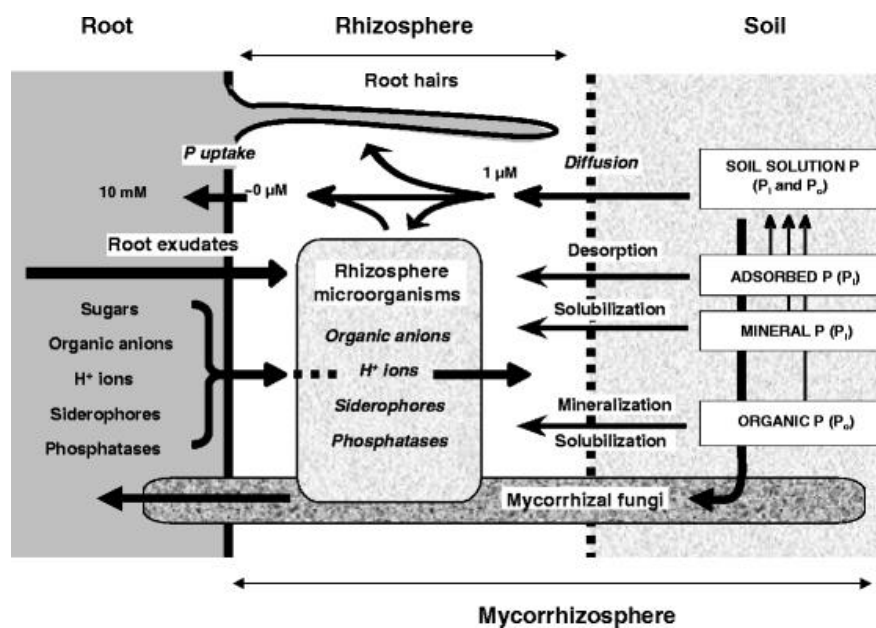


Figure 1.7 : Processus biologiques et chimiques induits par les plantes modifiant la biodisponibilité du phosphore au niveau de la rhizosphère. Issu de [Richardson et al. \(2009\)](#) *Plant Soil* 321, 305–339

D'autres enzymes sont également libérées par les plantes ([Rengel and Marschner 2005](#)) comme la phosphatase acide libérant des ions phosphates à partir de molécules organiques (phosphomonoesters) représentant jusqu'à 33% du phosphore dans les sols agricoles ([Menezes-Blackburn et al. 2018](#)). L'attraction de bactéries promotrices de la croissance des plantes (Plant Growth Promoting Bacteria) dans la rhizosphère, comme les bactéries fixatrices d'azote non symbiotiques, permet d'augmenter la disponibilité de l'azote dans le système ([Gray and Smith 2005](#), [Hartmann et al. 2009](#), [Di Benedetto et al. 2017](#)). D'autres processus, comme la libération d'inhibiteurs biologiques de la nitrification observée chez des graminées, réduit la transformation de l'ammonium en nitrate, ce qui permet à la plante de réduire le risque de pertes par lixiviation ([Scherer-Lorenzen et al. 2003](#), [Egenolf et al. 2022](#)). Cependant, l'acquisition des nutriments, définie comme l'ensemble des processus

mis en place pour transporter les nutriments à l'intérieur des cellules racinaires, est influencée par la capacité de la plante à être compétitive vis-à-vis des autres plantes et des communautés microbiennes qui utilisent ces nutriments ([Craine and Dybzinski 2013](#)). En effet, les nutriments minéraux disponibles pour les plantes peuvent être assimilés par les microorganismes lors d'un processus d'immobilisation. Enfin, la formation de symbioses mycorhiziennes améliore l'acquisition de l'eau et des nutriments par les plantes grâce à l'amélioration de l'exploration du sol ([Rillig 2004](#), [Morgan et al. 2005](#), [Parniske 2008](#)). Ainsi, jusqu'à 90% du phosphore des plantes peut résulter de la symbiose mycorhizienne ([van der Heijden et al. 2008](#)). Enfin, les processus physiques se déroulant dans la rhizosphère ont un rôle non négligeable dans l'acquisition des éléments par les plantes. La présence de mucilages permet de favoriser le contact des racines avec les particules du sol ([Meisam 2021](#)), et d'améliorer la conductivité hydraulique ([Carminati et al. 2016](#), [Zarebanadkouki et al. 2019a](#))(Figure 1.8). En agissant sur le transport de l'eau, ces processus participent à l'acquisition des nutriments au travers des processus de diffusion et de flux de masse des ressources dans la rhizosphère([Hinsinger et al. 2005](#), [Carminati and Vetterlein 2013](#)).

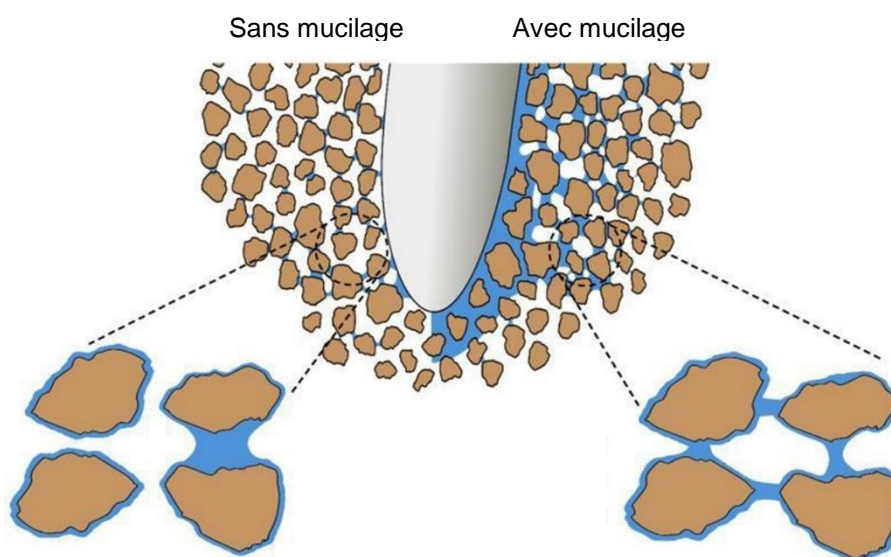


Figure 1.8 : Représentation schématique de l'effet de la présence de mucilages au niveau de l'apex d'une racine sur les propriétés hydrauliques de la rhizosphère en conditions de stress hydrique. La présence de mucilage permet de maintenir la teneur en eau de la rhizosphère et de conserver la connectivité entre les agrégats du sol et la racine. Issu de [Zarebanadkouki et al. \(2019b\)](#) *Vadose Zone Journal*, 18: 1-13 190021.

2.2. Santé des plantes

De nombreux pathogènes des plantes sont présents dans la rhizosphère et peuvent réduire la croissance des plantes ([Philippot et al. 2013](#)). Cependant, les communautés microbiennes de la rhizosphère peuvent aussi remplir des fonctions favorisant la santé des plantes ([Mendes et al. 2013](#)). En effet, les communautés microbiennes de la rhizosphère protègent les plantes contre les maladies

en empêchant l'établissement des pathogènes dans la rhizosphère, en inhibant leur développement ou en réduisant les dommages causés sur les plantes ([Exposito et al. 2017](#), [Schlatter et al. 2017](#)). Après la reconnaissance entre la plante et les communautés microbiennes par la libération d'exsudats spécifiques, un biofilm est mis en place assurant une protection à la plante vis-à-vis de pathogènes (Figure 1.9). En effet, ce biofilm est composé de cellules microbiennes et crée une barrière physique réduisant l'accessibilité de la racine pour les pathogènes ([Yang et al. 2017](#)), augmentant la compétition pour les ressources ([Fargione and Tilman 2005](#), [van Elsas et al. 2012](#), [Mendes et al. 2013](#)), sécrétant des antibiotiques ou autres métabolites qui permettent d'inhiber la croissance ou l'activité des microorganismes voisins ([Raaijmakers and Mazzola 2012](#), [Trivedi et al. 2020](#)) et stimulant la réponse immunitaire des plantes ([Pieterse et al. 2014](#)). En effet, les communautés microbiennes de la rhizosphère sont à l'origine de l'induction de processus de résistance systémique des plantes vis-à-vis de pathogènes des sols permettant aux plantes de se défendre contre les maladies ([Stringlis et al. 2018](#), [Chen et al. 2020](#)). L'induction de ces processus par les communautés microbiennes de la rhizosphère permettent également à la plante de réduire les dégâts causés sur les feuilles par des insectes herbivores ([Yuan et al. 2018](#)). De plus, cette réponse immunitaire peut résulter de l'exsudation de composés par les racines en réponse à l'infection par un pathogène, afin de sélectionner des communautés microbiennes spécifiques à l'origine du déclenchement des processus physiologiques de résistance de la plante ([Pieterse et al. 2014](#)). La diversité des communautés microbiennes de la rhizosphère permet également de prévenir l'invasion des tissus racinaires par un pathogène ([Jousset et al. 2011](#), [Yang et al. 2017](#)). En effet, plus la diversité du microbiome rhizosphérique est élevée, moins le risque d'invasion par des pathogènes du blé est importante ([Matos et al. 2005](#)), notamment par la présence de taxons spécifiques qui remplissent des fonctions de compétition avec les pathogènes ([Trivedi et al. 2017](#)).

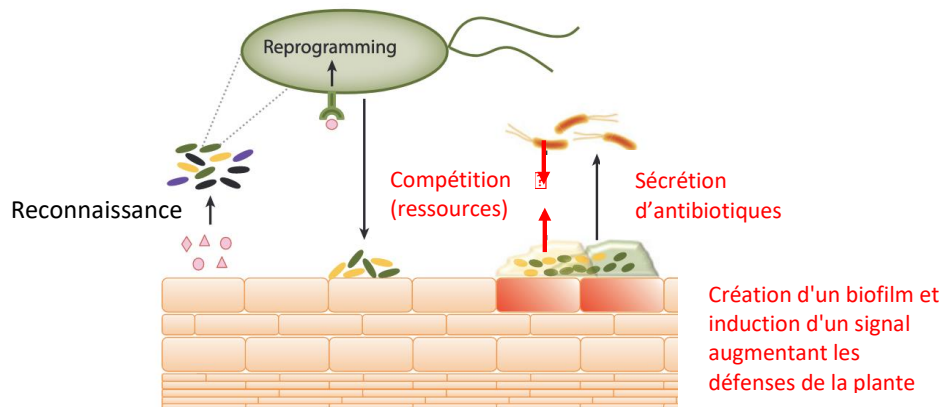


Figure 1.9 : Représentation schématique des différentes étapes de colonisation du rhizoplan par les communautés microbiennes de la rhizosphère à l'origine de la formation d'un biofilm. Adapté par [Le Cadre \(2022\)](#) d'après [Pieterse et al. \(2014\)](#) *Annual Review of Phytopathology*, 52:347-375.

Les communautés microbiennes de la rhizosphère permettent également d'accroître la tolérance des plantes aux stress abiotiques, tels que le stress hydrique ([Yang et al. 2009](#), [Naylor and Coleman-Derr 2018](#)), l'acidité des sols ([Raudales et al. 2009](#)), ou l'accumulation d'éléments traces métalliques ([Crowley 2006](#), [Podar and Maathuis 2022](#), [Wang et al. 2022](#)). Enfin, elles peuvent promouvoir la croissance des plantes par la libération d'hormones de croissance ou d'inducteurs de réponse à un stress ([Verbon and Liberman 2016](#), [Backer et al. 2018](#)).

La rhizosphère est impliquée dans la disponibilité des nutriments, la maintenance de la structure du sol et la régulation des populations de bioagresseurs ([Kibblewhite et al. 2008](#)). Ainsi, la rhizosphère est un levier de la transition agroécologique par sa contribution dans la nutrition et la santé des plantes et à l'entretien des fonctions du sol.

3. Les pratiques agricoles comme levier de l'effet rhizosphère

3.1. La fertilisation

La fertilisation, au travers de la quantité d'éléments et la forme chimique des éléments apportés, influence l'effet rhizosphère principalement en modifiant les propriétés du sol. Ainsi, l'apport d'ammonium augmente la libération de protons dans la rhizosphère lors de l'acquisition de l'azote, et conduit à une acidification du milieu ([Hinsinger et al. 2003](#)). A l'inverse, l'acquisition de nitrates apportés par la fertilisation est associée à une alcalinisation de la rhizosphère. Dans un sol agricole, l'activité enzymatique de la rhizosphère et la croissance des hyphes mycéliens des communautés mycorhiziennes symbiotiques du blé sont influencées par la quantité et le type de fertilisation ([Ai et al.](#)

[2012](#), [Tsiafouli et al. 2015](#), [Chen et al. 2019a](#), [Babalola et al. 2022](#)). La fertilisation minérale serait responsable d'une augmentation de la biomasse microbienne ([Geisseler and Scow 2014](#)), d'une modification des communautés microbiennes ([Ramirez et al. 2012](#)) et d'une réduction de la diversité des mycorhizes ([Egerton-Warburton et al. 2007](#)). L'apport de fertilisant organique en revanche augmenterait la diversité et l'activité des communautés microbiennes de la rhizosphère qui vont ainsi remplir une gamme plus large de fonctions potentiellement bénéfiques aux cultures ([Dambreville et al. 2006](#), [Ling et al. 2016](#), [Schmidt et al. 2019](#), [Rachwał et al. 2021](#)). De plus, l'utilisation de fertilisants minéraux en agriculture intensive réduit l'abondance de certains taxons et modifie l'assemblage des communautés microbiennes de la rhizosphère du blé ([Banerjee et al. 2019](#)).

3.2. La diversification des cultures

De nombreuses études se sont intéressées aux relations entre biodiversité cultivée et fonctionnement de la rhizosphère, notamment dans les parcelles de prairies et des associations de cultures ([Cardinale et al. 2011](#), [Krause et al. 2014](#)). Une plus grande diversité végétale spécifique permettrait d'augmenter la diversité, l'activité et l'abondance des communautés microbiennes de la rhizosphère ([Zak et al. 2003](#), [van der Heijden et al. 2008](#), [Eisenhauer et al. 2010](#), [Lange et al. 2015](#), [Steinauer et al. 2015](#), [Bakker et al. 2018](#)). La diversité des exsudats racinaires libérés par les différentes espèces végétales cultivées en association augmente la diversité des communautés microbiennes de la rhizosphère ([Eisenhauer et al. 2010](#), [Philippot et al. 2013](#), [Eisenhauer 2016](#), [Steinauer et al. 2016](#)). Ainsi, l'augmentation de la diversité spécifique des communautés microbiennes de la rhizosphère peut être à l'origine de l'amélioration de la productivité des cultures associées ([Tang et al. 2014](#)). Enfin, les rotations longues et l'introduction de couverts végétaux ont une influence positive sur la diversité, l'activité et la biomasse des communautés microbiennes de la rhizosphère ([Venter et al. 2016](#), [D'Acunतो et al. 2018](#), [Gentsch et al. 2020](#)).

3.3. Le travail du sol

L'intensité du travail du sol a une influence sur la diversité des communautés microbiennes présentes dans la rhizosphère et s'accompagne d'une modification de la présence de certains taxons qui sont associés à des fonctions spécifiques de recyclage des nutriments ([Tsiafouli et al. 2015](#), [Wang et al. 2017](#), [Hartman et al. 2018](#)). L'intensité du travail du sol est également négativement corrélée à l'abondance des communautés microbiennes de la rhizosphère ([Morugán-Coronado et al. 2022](#)). Enfin, la compaction et l'homogénéisation des horizons du sol serait également préjudiciable au recrutement d'un microbiome rhizosphérique bénéfique ([Warmink et al. 2011](#), [Ebrahimi and Or 2014](#)). D'après [Xomphoutheb et al. \(2020\)](#), la réduction du travail du sol favorise la disponibilité du phosphore dans

la rhizosphère du maïs, notamment grâce à une augmentation de l'activité de phosphatases libérant des ions phosphates dans la solution du sol.

3.4. L'inoculation

L'inoculation de souches microbiennes dans la rhizosphère a été étudiée dans de nombreuses études, et montrent un effet sur les communautés microbiennes de la rhizosphère ([Jimenez et al. 2020](#)). Certaines études ont montré un effet positif direct (libération de facteurs de croissance, augmentation de l'acquisition des nutriments) ou indirect (compétition avec d'autres microorganismes ou induction de mécanismes de résistances des plantes aux pathogènes) sur les performances des plantes ([Kohl et al. 2016](#), [Sun et al. 2021a](#)). Cependant, en condition d'expérimentation au champ, les résultats sur le rendement sont contrastés ([Castro-Sowinski et al. 2007](#), [Imperiali et al. 2017](#), [Kohl et al. 2019](#), [Salomon et al. 2022](#)) et dans nombre de cas inefficaces car les populations microbiennes exogènes ne sont pas compétitives face aux populations existants dans les sols, plus adaptées ([da Costa et al. 2020](#)).

3.5. Le choix des variétés et l'amélioration des plantes

La capacité des plantes à développer des conditions propices à leur croissance offre l'opportunité de sélectionner des variétés favorisant le fonctionnement de la rhizosphère bénéfique aux cultures ([Ahkami et al. 2017](#), [Wallenstein 2017](#), [Preece and Peñuelas 2020](#), [Hakim et al. 2021](#)). Ainsi, les processus de sélection centrés sur le fonctionnement biologique, chimique et physique de la rhizosphère se développent, notamment grâce aux fonctions remplies par le microbiome rhizosphérique ([Bakker et al. 2012](#), [Singh et al. 2022](#)). Par exemple, la capacité des variétés sauvages à modifier le fonctionnement de la rhizosphère doit être étudiée pour l'intégrer aux processus de sélection de variétés modernes ([Preece and Peñuelas 2020](#)). En effet, les processus de sélection variétale « classiques » visant à maximiser le rendement ou la résistance des plantes vis-à-vis de pathogènes ont pu altérer la capacité des plantes à modifier le fonctionnement de la rhizosphère, et plus spécifiquement l'assemblage des communautés microbiennes ou le recyclage des nutriments dans la rhizosphère ([Pérez-Jaramillo et al. 2016](#), [Gutierrez and Grillo 2022](#)).

Pour résumer, de nombreuses études ont cherché à comprendre le rôle des pratiques agricoles sur la qualité du sol et la santé des sols ([de Graaff et al. 2019](#)) car la préservation du fonctionnement du sol permet de conserver les fonctions essentielles au fonctionnement des plantes et de l'agroécosystème ([Guerra et al. 2021](#)). Les pratiques agricoles modifient également de manière indirecte l'effet rhizosphère au travers des propriétés du sol.

4. Méthodes de mesure de l'effet rhizosphère

4.1. Conditions de terrain et conditions contrôlées

Différentes méthodes de mesure de l'effet rhizosphère en conditions contrôlée ou sur le terrain existent et des avantages et des inconvénients existent pour les deux ([Luster et al. 2006](#)). L'étude de l'effet rhizosphère nécessite de prendre en compte la complexité des processus de ce compartiment ainsi que leur dynamique spatiotemporelle. Ainsi, des études peuvent nécessiter de séparer les compartiments de la rhizosphère (Figure 1.10). Pour étudier le compartiment rhizosphérique, des méthodes destructives ou non destructives peuvent être utilisées pour caractériser les propriétés de l'interface sol-plante ([Kuzyakov and Razavi 2019](#), [Freschet et al. 2021a](#)). En conditions contrôlées, le prélèvement d'échantillons de rhizosphère se fait à partir du dispositif dans lequel la plante se développe comme les rhizoboxes ou les pots ([Luster et al. 2009](#)). Les rhizoboxes sont des dispositifs permettant de visualiser la croissance des racines en deux dimensions grâce au développement de la plante dans une boîte inclinée dont la face inférieure est transparente ([Freschet et al. 2021a](#)). Grâce à ces dispositifs, il est possible de collecter du sol rhizosphérique sur des zones précises des racines ou sur l'ensemble du système racinaire. Ainsi, les connaissances *a priori* sont nécessaires pour étudier avec précision le fonctionnement de la rhizosphère afin de déterminer à quel stade de développement, sur quelles racines et quel type de mesures doivent être effectuées pour caractériser l'effet rhizosphère. Une fois prélevés, les échantillons sont analysés par des méthodes classiques mais devant être miniaturisées pour tenir compte de la faible quantité de sol récolté. Des méthodes non destructives comme les optodes permettent de réaliser des mesures *in situ* dans ces dispositifs en continu mais restent cantonnées aux flux de gaz (CO₂ et O₂), au pH ou à certains nutriments comme l'azote minéral ([Blossfeld et al. 2013](#), [Holz et al. 2020](#)).

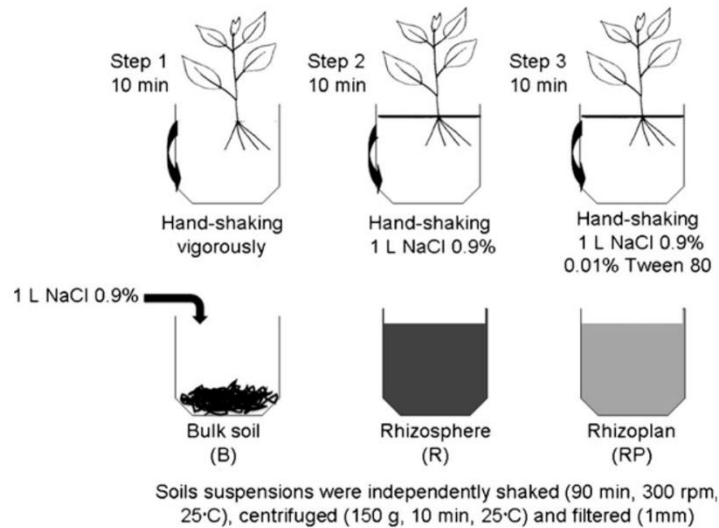


Figure 1.10 : Protocole d'échantillonnage de sol entier (Bulk soil), de sol rhizosphérique (R) et du rhizoplane (RP) dans une solution de NaCl. Tiré de [Barillot et al. \(2013\)](#) *Ann Microbiol* 63:471–476.

D'autres techniques de visualisation *in situ* telles que la zymographie ([Razavi et al. 2016](#)), la visualisation par radioscopie isotopique ([Holz et al. 2019](#)) ou l'imagerie par rayon X ([Carminati and Vetterlein 2013](#), [Helliwell et al. 2019](#)) sont également utilisées en conditions contrôlées ([Oburger and Schmidt 2016](#)). L'étude de l'effet rhizosphère sur le terrain est plus complexe car l'interface sol-plante n'est pas facilement accessible. Plusieurs méthodes destructives d'échantillonnage existent et correspondent au prélèvement de sol à proximité des racines, ou adhérent aux racines, qui peut varier selon les propriétés des sols telles que la texture et l'humidité pondérale ([Luster et al. 2009](#)). Cependant, lors de la collecte de sol rhizosphérique sur le terrain, de nombreuses racines peuvent se casser et les propriétés de la rhizosphère peuvent être dégradées lors des prélèvements ([Kuzakov and Razavi 2019](#)). De plus, les limites de la rhizosphère sont invisibles à l'œil nu et un effet de dilution des échantillons peut apparaître si du sol entier est collecté en tant que sol rhizosphérique. Le sol rhizosphérique doit donc être prélevé dans une zone racinaire dense, en général entre 0 et 30 cm de profondeur, car la majorité des racines se trouvent dans ces horizons et qu'il est difficile d'aller plus en profondeur ([Barillot et al. 2013](#)).

4.2. Estimation de l'effet rhizosphère par les caractéristiques des racines

4.2.1. Définition de la notion de trait

Les traits des plantes constituent l'ensemble des caractéristiques morphologiques, physiologiques ou phénologiques mesurables sur un individu, de l'échelle de la cellule à l'organisme dans son ensemble

([Violle et al. 2007](#)). La valeur ou modalité prise par un trait est appelée attribut ([Garnier and Navas 2012](#)) et varie en fonction des conditions biotiques et abiotiques du milieu ([Lavorel et al. 2007](#)), de l'individu ([Schneider and Lynch 2020](#)) ou de l'espèce ([Roumet et al. 2006](#), [Iversen et al. 2017](#), [Wen et al. 2019](#)). L'étude des traits des plantes s'est largement développée en écologie pour comprendre le fonctionnement des plantes et des écosystèmes ([Lavorel et al. 2007](#), [Eisenhauer 2012](#), [Tribouillois et al. 2015](#), [Freschet et al. 2021b](#)). En effet, les systèmes racinaires agissent comme de véritables ingénieurs de l'écosystème, permettant aux plantes de modifier ou de s'adapter aux conditions biotiques ou abiotiques dans leur environnement ([Bardgett et al. 2014](#), [Lynch et al. 2022](#)). De nombreuses études ont mis en évidence les relations entre les traits racinaires et le fonctionnement de la rhizosphère ([Bardgett et al. 2014](#), [Faucon et al. 2017](#)). Parmi les traits aériens ou souterrains des plantes, les traits qui influencent la performance ou valeur sélective de l'individu sont appelés « traits de performance » ([Violle et al. 2007](#)). La performance de la plante correspond à sa capacité à se développer, à se reproduire et à survivre dans son environnement. Elle est directement modulée par la valeur de trois traits de performance que sont la biomasse végétative, le succès reproducteur et la survie de l'individu ([Garnier and Navas 2012](#)). Les traits des plantes sont reconnus comme étant de bons proxys du fonctionnement des plantes en agriculture car ils jouent un rôle direct ou indirect sur la productivité des cultures ([Garnier and Navas 2012](#), [Martin and Isaac 2015](#), [Engbersen et al. 2022](#)). En agronomie, la productivité des cultures se mesure par le rendement qui correspond à une masse produite par unité de surface pour les céréales ($\text{qx} \cdot \text{ha}^{-1}$). Le rendement est influencé par trois variables, appelées composantes du rendement ([Weiner et al. 2017](#)) :

- le nombre d'épis par m^2 , correspond au produit du nombre d'épis par plant et de la densité de semis,
- le nombre de grains par épis,
- le poids de mille grains.

Ces variables sont des traits des plantes directement ou indirectement associés à la performance des plantes et plus particulièrement au succès reproducteur observable à l'échelle de l'individu (Figure 1.11).

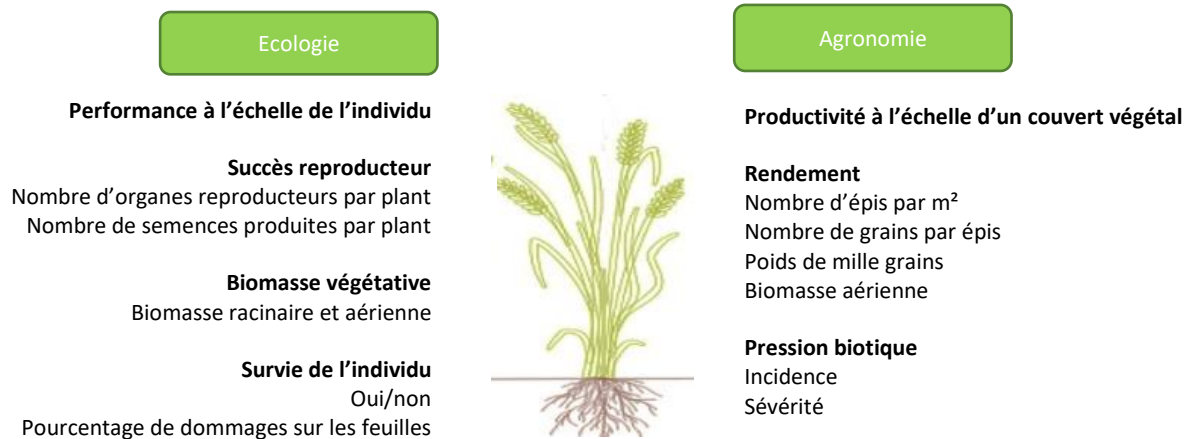


Figure 1.11 : Correspondance des traits écologiques et des mesures agronomiques. Contribution originale.

4.2.2. Traits racinaires et processus dans la rhizosphère

A l'interface entre la plante et son environnement, un trait racinaire est associé à des processus biologiques qui assurent une ou plusieurs fonctions écologiques essentielles à la plante ([Lavorel and Garnier 2002](#), [McCormack et al. 2015](#), [Faucon et al. 2017](#), [Laliberte 2017](#), [Erktan et al. 2018](#), [Freschet et al. 2021b](#)). De nombreux traits permettent de caractériser les systèmes racinaires des végétaux ([Freschet et al. 2021a](#)) et peuvent être caractérisés à l'échelle du système racinaire dans son ensemble, d'une partie du système racinaire ou d'une racine individuelle. Parmi les différents traits (Table 1.1), les traits associés à la physiologie des racines sont corrélés à la respiration racinaire, l'absorption des nutriments, l'exsudation ou l'accumulation de biomasse ([Bardgett et al. 2014](#)). Les traits racinaires associés à la physiologie des racines sont donc impliqués dans la nutrition et la santé des plantes ([Freschet and Roumet 2017](#)) au travers de différents processus de la rhizosphère. Parmi les traits impliqués dans l'acquisition des nutriments, la biomasse racinaire joue un rôle essentiel dans la capacité des plantes à explorer et exploiter l'environnement du sol ([Lambers et al. 2008](#), [Craine and Dybzinski 2013](#)). En effet, un système racinaire étendu permet à la plante d'explorer ou d'exploiter un volume de sol plus large afin d'absorber plus de nutriments et d'eau ([Liao et al. 2006](#), [Ehdaie et al. 2010](#), [Bardgett et al. 2014](#), [Shen et al. 2018](#), [Zhu et al. 2019](#)). La distribution de la biomasse racinaire dans le sol peut donc être utilisée pour comprendre la réponse des plantes à une modification de la disponibilité de l'eau et des nutriments ([Poorter et al. 2012](#), [Freschet et al. 2021b](#)). Cependant, la répartition de la biomasse racinaire varie en fonction des caractéristiques morphologiques des racines (Table 1.1) qui renvoient aux caractéristiques anatomiques, structurales ou architecturales ([Freschet et al. 2021a](#)). L'anatomie fait référence à l'organisation interne des tissus racinaires ([Lynch et al. 2021](#)). L'architecture racinaire renvoie à la configuration spatiale, c'est à dire la position des racines dans le

sol. La structure du système racinaire correspond à la diversité des types fonctionnels des racines de l'individu ([Osmont et al. 2007](#)). Ainsi, la longueur spécifique racinaire joue un rôle essentiel car ce trait permet de définir la longueur des racines par unité de biomasse allouée au compartiment souterrain ([Ostonen et al. 2007](#), [Freschet et al. 2015](#), [Lynch 2019](#), [Freschet et al. 2021a](#)). Elle traduit l'investissement des plantes dans les racines pour acquérir les nutriments et l'eau du sol.

Table 1.1 : Liste des principaux traits racinaires permettant de caractériser la morphologie, la physiologie et la phénologie des plantes. Adapté de la liste exhaustive de traits présentée par [Freschet et al. \(2021a\)](#) *New Phytol*, 232: 973-1122.

Caractéristique	Trait	Définition	Unité
Morphologiques	Densité des tissus racinaires	Masse sèche par unité de volume racinaire	g.cm^{-3}
	Densité de longueur racinaire	Longueur par unité de volume de sol	cm.cm^{-3}
	Longueur spécifique racinaire	Longueur racinaire par unité de biomasse racinaire sèche	cm.g^{-1}
	Angle de croissance racinaire	Plus petit angle entre la direction de croissance de la racine et une ligne horizontale	degrés
	Angle d'insertion des ramifications	Angle entre la ramification et la racine parente sur laquelle celle-ci est rattachée	degrés
	Densité des ramifications	Nombre de racines latérales par unité de longueur de la racine parente	cm^{-1}
	Diamètre racinaire	Moyenne des diamètres mesurés sur la racine	mm
	Profondeur racinaire	Profondeur maximale à laquelle des racines sont observées dans le sol	mm
Physiologiques	Biomasse racinaire	Masse sèche racinaire	g
	Fraction massique racinaire	Ratio entre la biomasse racinaire et la biomasse totale de l'individu	g.g^{-1}
	Teneur en élément	Masse de l'élément par unité de masse sèche	mg.g^{-1}
	Respiration spécifique racinaire	Quantité de CO_2 émise ou de O_2 absorbée par les racines par unité de masse sèche, longueur, surface ou volume et de temps	$\mu\text{mol.cm}^{-1}.\text{s}^{-1}$
	Taux d'exsudation net	Quantité de carbone organique libéré par les racines dans la rhizosphère moins la réabsorption et l'utilisation par les microorganismes, par unité de longueur des racines et de temps	$\mu\text{mol.C.cm}^{-1}.\text{h}^{-1}$
	Taux d'acquisition net	Quantité d'un élément accumulé dans un individu par unité de masse sèche et de temps	$\mu\text{g.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$
	Intensité de la colonisation mycorhizienne	Degré d'association symbiotique de la racine avec des communautés fongiques	%
Phénologiques	Longévité de la racine	Durée de vie entre la naissance et la mort de la racine	jours
	Taux de renouvellement racinaire	Masse sèche produite par unité de masse sèche totale sur une période donnée	jour^{-1}
	Date d'initiation de la croissance racinaire	Jour de l'année auquel la production racinaire commence à augmenter après une période de baisse de la croissance (notamment en hiver)	date
	Taux d'élongation	Longueur racinaire produite par unité de temps	cm.jour^{-1}

L'augmentation de la longueur spécifique accroît l'accès aux ressources grâce à un volume d'exploration des racines plus important. Par exemple, l'acquisition de l'azote ([Liu et al. 2022a](#)), du phosphore ([Wen et al. 2019](#)) et de l'eau ([Brunel-Saldias et al. 2020](#)) sont favorisés grâce à l'augmentation de la longueur spécifique racinaire. La densité des tissus racinaires permet également de caractériser la quantité de matière sèche investie dans les racines ([Freschet et al. 2021a](#)). Cette caractéristique anatomique permet à la plante de réguler la quantité de racines produite par unité de biomasse racinaire pour explorer le sol. Ainsi, la réduction de la densité des tissus racinaires ([Comas et al. 2013](#)) et l'augmentation de la densité de ramifications racinaires ([Lynch 2011](#), [Postma et al. 2014](#), [Haling et al. 2018](#)) sont associées à une augmentation de la capacité d'exploration des racines. De plus, les racines établissent des symbioses avec les communautés microbiennes du sol comme les mycorhizes qui permettent aux végétaux d'augmenter le volume de sol exploré ([van der Heijden et al. 2015](#)). L'établissement de symbioses est favorisé par l'exsudation de signaux chimiques qui vont permettre aux symbiotes de reconnaître et coloniser les systèmes racinaires ([Franche et al. 2009](#), [Chen et al. 2016](#), [Campos et al. 2018](#)). Les traits racinaires jouent également un rôle dans la structure physique de la rhizosphère ([Daynes et al. 2013](#)) qui peut être conditionnée par l'arrangement des agrégats du sol à l'origine d'une porosité permettant les échanges liquides et gazeux dans le sol ([Peng et al. 2015](#)). L'exsudation de composés solubles et la sécrétion de mucilages favorise la porosité du sol en améliorant la stabilité structurale des agrégats ([Amellal et al. 1998](#), [Carminati et al. 2016](#), [Dignac et al. 2017](#)) et l'exploration et la pénétration des racines dans le sol ([Freschet and Roumet 2017](#), [Zeppenfeld et al. 2017](#), [Zarebanadkouki et al. 2019a](#)). Certaines études ont également montré le rôle de traits morphologiques dans la structure du sol telles que la longueur spécifique ou la densité de longueur racinaire ([Gould et al. 2016](#), [Demenois et al. 2018](#), [Le Bissonnais et al. 2018](#)). Enfin, les traits phénologiques permettent de caractériser la dynamique de croissance des racines entre la naissance et la sénescence des tissus racinaires ([Radville et al. 2016](#), [Freschet et al. 2021a](#)). Ces traits sont également associés au renouvellement racinaire.

Ainsi, les traits racinaires peuvent être utilisés comme proxys de l'effet rhizosphère car ils varient selon les propriétés de la rhizosphère ([Bardgett et al. 2014](#), [Faucon et al. 2017](#)). Ces traits racinaires sont associés à la performance des plantes mais les relations entre les deux doivent être étudiées au regard de l'effet rhizosphère car de nombreuses incertitudes subsistent ([Ma et al. 2018](#), [Kong et al. 2019](#), [Weemstra et al. 2021](#)). Cela s'explique par une prise en compte récente des traits racinaires dans l'étude du fonctionnement des végétaux ([Weigelt et al. 2021](#)) et de la variabilité des traits selon le contexte pédoclimatique et le modèle biologique étudié ([Freschet et al. 2021a](#)). De plus, l'effet des pratiques agricoles sur les propriétés de la rhizosphère doit être considéré à la lumière des traits racinaires ([Martin and Isaac 2015](#)).

5. La production de connaissances actionnables sur l'effet rhizosphère pour la conception de systèmes de cultures agroécologiques

5.1. La difficulté de produire des connaissances actionnables sur l'effet rhizosphère

Une connaissance actionnable est une connaissance scientifique susceptible d'induire un changement immédiat dans la société ([Argyris 2009](#)). Ainsi, une connaissance est actionnable si elle permet de répondre à une question appliquée ([Evans et al. 2017](#)). En agriculture, les connaissances actionnables sont nécessaires pour assister les agriculteur.rices vers la prise de décision dans un contexte de transformation agroécologique des systèmes agricoles ([Geertsema et al. 2016](#)). La plupart des processus écologiques, et tout particulièrement ceux de la rhizosphère ([Vetterlein et al. 2022](#)) sont très complexes et multifactoriels, ce qui nécessite une approche de modélisation multivariée. Cependant, afin de générer des connaissances actionnables de l'effet rhizosphère, cette modélisation multivariée doit permettre d'identifier les **structures et liens de causalité directs et indirects** entre l'effet rhizosphère et les performances des plantes liées à la productivité des cultures. Par conséquent, l'étude de l'interface sol-plante doit prendre en compte l'ensemble du système sol-plante grâce à une approche basée sur les traits des plantes ([Valé et al. 2005](#), [Abalos et al. 2019](#), [Munoz-Ucros et al. 2021](#), [Lynch et al. 2022](#)).

5.2. Définition de la causalité

La causalité est définie par le fait qu'un événement Y se réalise lorsque qu'un autre événement X est réalisé. D'un point de vue statistique, cette définition se traduit par le fait que l'on puisse modifier la loi de distribution de Y en modifiant la valeur de X. Dans ce cas, nous pouvons considérer que X est la cause de Y ([Pearl et al. 2010](#)). Il est important de rappeler que, par définition, la relation entre X et Y est orientée et non symétrique comme cela peut-être le cas lorsque X et Y sont corrélées ([Shiple 2016](#), [Arif and MacNeil 2022](#)). Plus précisément, la causalité implique l'existence d'une relation de corrélation tandis que la corrélation n'implique pas forcément de lien de causalité comme le résume la célèbre phrase « correlation doesn't equal causation » attribuée à Karl Pearson en 1912. L'identification de processus de causalité sort donc du cadre « classique » de modèles de régressions (ANOVA, régression linéaire, modèles mixtes, etc...) et nécessite la mise en œuvre de modalités d'acquisition de données et de modélisation dédiée à la question traitée et notamment l'utilisation de modèles structuraux ([Laubach et al. 2021](#), [Arif and MacNeil 2022](#)).

5.3. La modélisation par équations structurales pour la production de connaissances actionnables

Les outils de modélisation par équations structurales ont été développés au début du 20^{ème} siècle ([Wright 1921](#)) et utilisés dans plusieurs domaines des sciences humaines et sociales, de la médecine et se développent largement en écologie ([Fan et al. 2016](#), [Godlee et al. 2021](#)). Bien que la modélisation par équations structurales ne permette pas de tester, à proprement parler, les relations causales ([Shiplely 2016](#)), elle permet de séparer les effets directs et indirects par la construction d'un réseau de variables interconnectées ([Eisenhauer et al. 2015](#)). Ce réseau s'apparente à un graphe orienté acyclique (en anglais DAG pour Directed Acyclic Graph) qui constitue un outil extrêmement puissant de visualisation et également de partage et de médiation d'hypothèses causales à l'échelle du système dans son ensemble ([Grace 2006](#), [Grace and Bollen 2008](#), [Poorter et al. 2014](#), [Eisenhauer et al. 2015](#), [Shiplely 2016](#)).

La conceptualisation d'un système par la construction d'un DAG offre une grande flexibilité qui permet à la modélisation de structures causales de couvrir un large éventail d'hypothèses causales relatives à la nature des données collectées ([Eisenhauer et al. 2015](#), [Laughlin and Grace 2019](#)). Par exemple, les DAGs autorisent la modélisation de données observationnelles, de données hiérarchisées, de données longitudinales ou encore multi-groupes ([Fan et al. 2016](#)). En premier lieu, les analyses de chemin (ou path analysis) incluent uniquement les variables observées reliées entre elles ([Shiplely 1997](#)) et ont pu être utilisés pour relier les traits des plantes à l'activité biologique de la rhizosphère associée au cycle de l'azote ([Cantarel et al. 2015](#)) ou encore pour étudier l'effet des propriétés des sols sur les traits racinaires ([Fort et al. 2016](#)). Ensuite, à partir de mesures répétées dans le temps, l'évolution longitudinale des conditions climatiques au cours d'un cycle cultural, en relation avec le rendement du seigle, a été investiguée par une modélisation par équations structurales ([Kim et al. 2020](#)). D'autre part, le regroupement de données par niveau de fertilisation azotée apportée à la culture a permis d'évaluer le lien entre la santé des sols et la réponse des plantes par une modélisation structurelle multi-groupe ([Wade et al. 2020](#)).

La modélisation structurelle par l'intermédiaire des DAGs présente également la possibilité d'inclure des concepts théoriques non mesurables dans les structurales causales étudiées par l'intermédiaire de variables latentes ([Loehlin and Beaujean 2017](#)). L'introduction de variables latentes offre de nombreux avantages pour les systèmes d'étude en écologie ([Grace 2006](#), [Lamb et al. 2011](#), [Fan et al. 2016](#), [Shiplely 2016](#), [Brondani et al. 2022](#)) par la définition de variables synthétiques permettant souvent d'améliorer la généralité des hypothèses causales entre variables latentes. En effet, l'utilisation de variables latentes permet de distinguer les variables observées et les concepts théoriques sous-jacents qui

portent souvent les hypothèses causales ([Grace 2006](#), [Lamb et al. 2011](#)). Parmi les nombreux exemples d'utilisation de modèles d'équations structurales à variables latentes, nous pouvons citer les travaux de ([Brondani et al. 2022](#)) menés sur le pin maritime (*Pinus pinaster*) et qui ont permis d'associer la diversité bactérienne et la diversité fonctionnelle des nématodes bactérivores aux traits racinaires et à la nutrition en azote et en phosphore des plantes (Figure 1.12).

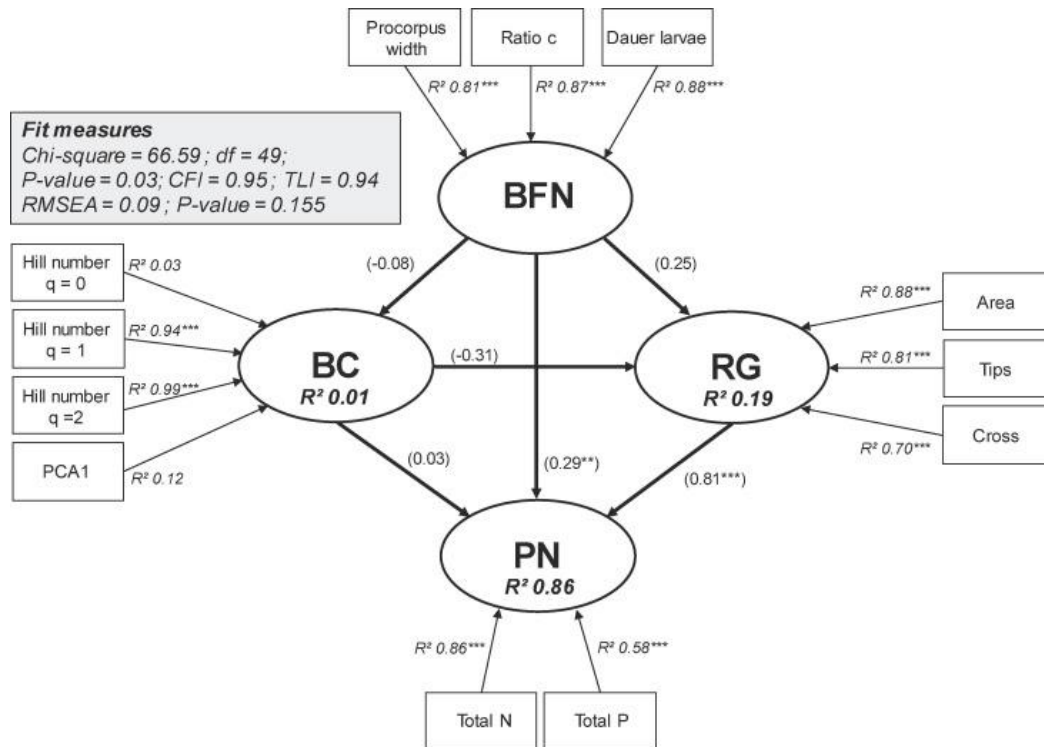


Figure 1.12 : Modèle d'équations structurales à variables latentes composé de variables manifestes (représentées par des rectangles) associées à différentes variables latentes (représentées par des ovales) caractérisant la diversité des communautés microbiennes du sol (BC), la diversité fonctionnelle des nématodes bactérivores (BFN), la croissance des racines (RG) et la nutrition des plantes (PN). Les flèches indiquent les relations causales du modèle. Issu de [Brondani et al. \(2022\)](#) *Geoderma* 425 : 116068.

Pour résumer, la production de connaissances actionnables pour la conception de systèmes de cultures agroécologiques favorisant la rhizosphère nécessite de développer des approches holistiques permettant d'identifier les hypothèses causales pour relier l'effet rhizosphère aux performances des plantes. La modélisation par équations structurales à variables latentes est un outil statistique puissant et suffisamment flexible pour répondre à cet enjeu d'identifier des structurales causales pouvant générer des connaissances actionnables.

6. Références

- A'Bear, A. D., T. H. Jones, E. Kandeler, and L. Boddy. 2014. Interactive effects of temperature and soil moisture on fungal-mediated wood decomposition and extracellular enzyme activity. *Soil Biology & Biochemistry* **70**:151-158. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.12.017>
- Abalos, D., J. W. van Groenigen, L. Philippot, I. M. Lubbers, and G. B. De Deyn. 2019. Plant trait-based approaches to improve nitrogen cycling in agroecosystems. *Journal of Applied Ecology* **56**:2454-2466. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13489>
- Ahkami, A. H., R. Allen White, P. P. Handakumbura, and C. Jansson. 2017. Rhizosphere engineering: Enhancing sustainable plant ecosystem productivity. *Rhizosphere* **3**:233-243. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2017.04.012>
- Ai, C., G. Liang, J. Sun, X. Wang, and W. Zhou. 2012. Responses of extracellular enzyme activities and microbial community in both the rhizosphere and bulk soil to long-term fertilization practices in a fluvo-aquic soil. *Geoderma* **173-174**:330-338. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2011.07.020>
- Alvey, S., C. H. Yang, A. Buerkert, and D. E. Crowley. 2003. Cereal/legume rotation effects on rhizosphere bacterial community structure in West African soils. *Biology and Fertility of Soils* **37**:73-82. <https://doi.org/10.1007/s00374-002-0573-2>
- Amellal, N., G. Burtin, F. Bartoli, and T. Heulin. 1998. Colonization of wheat roots by an exopolysaccharide-producing *Pantoea* agglomerans strain and its effect on rhizosphere soil aggregation. *Applied Environmental Microbiology* **64**:3740-3747. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.10.3740-3747.1998>
- Argyris, C. 2009. Actionable Knowledge. Page 423 in C. Knudsen and H. Tsoukas, editors. *The Oxford handbook of organization theory*. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/oxfordhb/9780199275250.003.0016>
- Arif, S., and M. A. MacNeil. 2022. Predictive models aren't for causal inference. *Ecology Letters* **25**:1741-1745. <https://doi.org/10.1111/ele.14033>
- Babalola, B. J., J. Li, C. E. Willing, Y. Zheng, Y.-L. Wang, H.-Y. Gan, X.-C. Li, C. Wang, C. A. Adams, C. Gao, and L.-D. Guo. 2022. Nitrogen fertilisation disrupts the temporal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal hyphae but not spore density and community composition in a wheat field. *New Phytologist* **234**:2057-2072. <https://doi.org/10.1111/nph.18043>
- Backer, R., J. S. Rokem, G. Ilangumaran, J. Lamont, D. Praslickova, E. Ricci, S. Subramanian, and D. L. Smith. 2018. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture. *Frontiers in Plant Science* **9**. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01473>
- Badalucco, L., and P. Nannipieri. 2007. Nutrient transformations in the rhizosphere. Pages 111-133 in R. Pinton, Z. Varanini, and P. Nannipieri, editors. *The rhizosphere : biochemistry and organic substances at the soil-plant interface*. CRC Press, Boca Raton, Florida. <https://www.taylorfrancis.com/chapters/mono/10.1201/9781420005585-9/nutrient-transformations-rhizosphere-roberto-pinton-zeno-varanini-paolo-nannipieri>
- Bai, Z., T. Caspari, M. R. Gonzalez, N. H. Batjes, P. Mäder, E. K. Bünemann, R. de Goede, L. Brussaard, M. Xu, C. S. S. Ferreira, E. Reintam, H. Fan, R. Mihelič, M. Glavan, and Z. Tóth. 2018. Effects of agricultural management practices on soil quality: A review of long-term experiments for Europe and China. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **265**:1-7. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.05.028>
- Bais, H. P., T. L. Weir, L. G. Perry, S. Gilroy, and J. M. Vivanco. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual review of plant biology* **57**:233-266. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159>
- Bakker, L. M., L. Mommer, and J. Van Ruijven. 2018. Can root trait diversity explain complementarity effects in a grassland biodiversity experiment? *Journal of Plant Ecology* **11**:73-84. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtw111>

- Bakker, M. G., D. K. Manter, A. M. Sheflin, T. L. Weir, and J. M. Vivanco. 2012. Harnessing the rhizosphere microbiome through plant breeding and agricultural management. *Plant and Soil* **360**:1-13. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1361-x>
- Bakker, P., R. L. Berendsen, R. F. Doornbos, P. C. A. Wintermans, and C. M. J. Pieterse. 2013. The rhizosphere revisited: root microbiomics. *Frontiers in Plant Science* **4**:7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00165>
- Banerjee, S., F. Walder, L. Büchi, M. Meyer, A. Y. Held, A. Gattinger, T. Keller, R. Charles, and M. G. A. van der Heijden. 2019. Agricultural intensification reduces microbial network complexity and the abundance of keystone taxa in roots. *The ISME Journal* **13**:1722-1736. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0383-2>
- Barber, S. A., J. M. Walker, and E. H. Vasey. 1963. Mechanisms for Movement of Plant Nutrients from Soil and Fertilizer to Plant Root. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **11**:204-207. <https://doi.org/10.1021/jf60127a017>
- Bardgett, R. D., L. Mommer, and F. T. De Vries. 2014. Going underground: root traits as drivers of ecosystem processes. *Trends in Ecology & Evolution* **29**:692-699. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.10.006>
- Barillot, C. D. C., C. O. Sarde, V. Bert, E. Tarnaud, and N. Cochet. 2013. A standardized method for the sampling of rhizosphere and rhizoplan soil bacteria associated to a herbaceous root system. *Annals of Microbiology* **63**:471-476. <https://doi.org/10.1007/s13213-012-0491-y>
- Bartelt-Ryser, J., J. Joshi, B. Schmid, H. Brandl, and T. Balsler. 2005. Soil feedbacks of plant diversity on soil microbial communities and subsequent plant growth. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* **7**:27-49. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2004.11.002>
- Benard, P., M. Zarebanadkouki, and A. Carminati. 2019. Physics and hydraulics of the rhizosphere network. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **182**:5-8. <https://doi.org/10.1002/jpln.201800042>
- Berendsen, R. L., C. M. J. Pieterse, and P. Bakker. 2012. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science* **17**:478-486. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>
- Berg, G., and K. Smalla. 2009. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *Fems Microbiology Ecology* **68**:1-13. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00654.x>
- Bever, J. D., T. G. Platt, and E. R. Morton. 2012. Microbial Population and Community Dynamics on Plant Roots and Their Feedbacks on Plant Communities. *Annual Review of Microbiology* **66**:265-283. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092611-150107>
- Blossfeld, S., C. M. Schreiber, G. Liebsch, A. J. Kuhn, and P. Hinsinger. 2013. Quantitative imaging of rhizosphere pH and CO₂ dynamics with planar optodes. *Annals of Botany* **112**:267-276. <https://doi.org/10.1093/aob/mct047>
- Bommarco, R., D. Kleijn, and S. G. Potts. 2013. Ecological intensification: harnessing ecosystem services for food security. *Trends in Ecology & Evolution* **28**:230-238. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.10.012>
- Bonkowski, M., W. Cheng, B. S. Griffiths, J. Alpeij, and S. Scheu. 2000. Microbial-faunal interactions in the rhizosphere and effects on plant growth. Paper presented at the 16th World Congress of Soil Science, 20–26 August 1998, Montpellier, France. *European Journal of Soil Biology* **36**:135-147. [https://doi.org/10.1016/S1164-5563\(00\)01059-1](https://doi.org/10.1016/S1164-5563(00)01059-1)
- Bowen, G. D., and A. D. Rovira. 1999. The Rhizosphere and Its Management To Improve Plant Growth. Pages 1-102 in D. L. Sparks, editor. *Advances in Agronomy*. Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60425-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60425-3)
- Bray, R. H. 1954. A nutrient mobility concept of soil-plant relationships. *J Soil Science* **78**:9-22.
- Brisson, V. L., J. E. Schmidt, T. R. Northen, J. P. Vogel, and A. C. M. Gaudin. 2019. Impacts of Maize Domestication and Breeding on Rhizosphere Microbial Community Recruitment from a Nutrient Depleted Agricultural Soil. *Scientific Reports* **9**:15611. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52148-y>

- Brondani, M., C. Plassard, E. Ramstein, A. Cousson, M. Hedde, L. Bernard, and J. Trap. 2022. Morpho-anatomical traits explain the effects of bacterial-feeding nematodes on soil bacterial community composition and plant growth and nutrition. *Geoderma* **425**:116068. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2022.116068>
- Brunel-Saldias, N., J. P. Ferrio, A. Elazab, M. Orellana, and A. del Pozo. 2020. Root Architecture and Functional Traits of Spring Wheat Under Contrasting Water Regimes. *Frontiers in Plant Science* **11**. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.581140>
- Bulgarelli, D., M. Rott, K. Schlaeppli, E. Ver Loren van Themaat, N. Ahmadinejad, F. Assenza, P. Rauf, B. Huettel, R. Reinhardt, E. Schmelzer, J. Peplies, F. O. Gloeckner, R. Amann, T. Eickhorst, and P. Schulze-Lefert. 2012. Revealing structure and assembly cues for Arabidopsis root-inhabiting bacterial microbiota. *Nature* **488**:91-95. <https://doi.org/10.1038/nature11336>
- Bulgarelli, D., K. Schlaeppli, S. Spaepen, E. V. L. v. Themaat, and P. Schulze-Lefert. 2013. Structure and Functions of the Bacterial Microbiota of Plants. *Annual Review of Plant Biology* **64**:807-838. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120106>
- Burns, J. H., B. L. Anacker, S. Y. Strauss, and D. J. Burke. 2015. Soil microbial community variation correlates most strongly with plant species identity, followed by soil chemistry, spatial location and plant genus. *Aob Plants* **7**. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plv030>
- Campos, P., F. Borie, P. Cornejo, J. A. López-Ráez, Á. López-García, and A. Seguel. 2018. Phosphorus Acquisition Efficiency Related to Root Traits: Is Mycorrhizal Symbiosis a Key Factor to Wheat and Barley Cropping? *Frontiers in Plant Science* **9**. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00752>
- Cantarel, A. A. M., T. Pommier, M. Desclos-Theveniau, S. Diquélou, M. Dumont, F. Grassein, E.-M. Kastl, K. Grigulis, P. Laîné, S. Lavorel, S. Lemauviel-Lavenant, E. Personeni, M. Schloter, and F. Poly. 2015. Using plant traits to explain plant-microbe relationships involved in nitrogen acquisition. *96*:788-799. <https://doi.org/10.1890/13-2107.1>
- Caquet, T., C. Gascuel, and M. Tixier-Boichard. 2020. Agroécologie : des recherches pour la transition des filières et des territoires E. Quaé. <https://www.quae-open.com/extract/465>
- Cardinale, B. J., K. L. Matulich, D. U. Hooper, J. E. Byrnes, E. Duffy, L. Gamfeldt, P. Balvanera, M. I. O'Connor, and A. Gonzalez. 2011. The functional role of producer diversity in ecosystems. *American Journal of Botany* **98**:572-592. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000364>
- Carminati, A. 2013. Rhizosphere wettability decreases with root age: a problem or a strategy to increase water uptake of young roots? *Frontiers in Plant Science* **4**:298. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00298>
- Carminati, A., A. B. Moradi, D. Vetterlein, P. Vontobel, E. Lehmann, U. Weller, H.-J. Vogel, and S. E. Oswald. 2010. Dynamics of soil water content in the rhizosphere. *Plant and Soil* **332**:163-176. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0283-8>
- Carminati, A., and D. Vetterlein. 2013. Plasticity of rhizosphere hydraulic properties as a key for efficient utilization of scarce resources. *Annals of Botany* **112**:277-290. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs262>
- Carminati, A., M. Zarebanadkouki, E. Kroener, M. A. Ahmed, and M. Holz. 2016. Biophysical rhizosphere processes affecting root water uptake. *Annals of Botany* **118**:561-571. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw113>
- Castro-Sowinski, S., Y. Herschkovitz, Y. Okon, and E. Jurkevitch. 2007. Effects of inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria on resident rhizosphere microorganisms. *Fems Microbiology Letters* **276**:1-11. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00878.x>
- Chaparro, J. M., D. V. Badri, and J. M. Vivanco. 2014. Rhizosphere microbiome assemblage is affected by plant development. *Isme Journal* **8**:790-803. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.196>
- Chapman, N., A. J. Miller, K. Lindsey, and W. R. Whalley. 2012. Roots, water, and nutrient acquisition: let's get physical. *Trends in Plant Science* **17**:701-710. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.08.001>
- Chen, H., Z. Dai, A. M. Veach, J. Zheng, J. Xu, and C. W. Schadt. 2020. Global meta-analyses show that conservation tillage practices promote soil fungal and bacterial biomass. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **293**:106841. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.106841>

- Chen, S., T. R. Waghmode, R. Sun, E. E. Kuramae, C. Hu, and B. Liu. 2019a. Root-associated microbiomes of wheat under the combined effect of plant development and nitrogen fertilization. *Microbiome* **7**:136. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0750-2>
- Chen, W., R. T. Koide, T. S. Adams, J. L. DeForest, L. Cheng, and D. M. Eisenstat. 2016. Root morphology and mycorrhizal symbioses together shape nutrient foraging strategies of temperate trees. *PNAS* **113**:8741-8746. <https://doi.org/10.1073/pnas.1601006113>
- Chen, X., M. Liu, F. Hu, X. Mao, and H. Li. 2007. Contributions of soil micro-fauna (protozoa and nematodes) to rhizosphere ecological functions. *Acta Ecologica Sinica* **27**:3132-3143. [https://doi.org/10.1016/S1872-2032\(07\)60068-7](https://doi.org/10.1016/S1872-2032(07)60068-7)
- Chen, Y., J. A. Palta, P. Wu, and K. H. M. Siddique. 2019b. Crop root systems and rhizosphere interactions. *Plant and Soil* **439**:1-5. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04154-2>
- Cheng, W., D. W. Johnson, and S. Fu. 2003. Rhizosphere Effects on Decomposition. *Soil Science Society of America Journal* **67**:1418-1427. <https://doi.org/10.2136/sssaj2003.1418>
- Comas, L., S. Becker, V. M. Cruz, P. F. Byrne, and D. A. Dierig. 2013. Root traits contributing to plant productivity under drought. *Frontiers in Plant Science* **4**. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00442>
- Córdoba, C., C. Triviño, and J. Toro Calderón. 2020. Agroecosystem resilience. A conceptual and methodological framework for evaluation. *Plos One* **15**:e0220349. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220349>
- Craine, J. M., and R. Dybzinski. 2013. Mechanisms of plant competition for nutrients, water and light. *Functional Ecology* **27**:833-840. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12081>
- Crowley, D. E. 2006. Microbial Siderophores in the Plant Rhizosphere. Pages 169-198 *in* L. L. Barton and J. Abadia, editors. *Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganisms*. Springer Netherlands, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/1-4020-4743-6_8
- D'Acunto, L., J. F. Andrade, S. L. Poggio, and M. Semmartin. 2018. Diversifying crop rotation increased metabolic soil diversity and activity of the microbial community. *Agriculture Ecosystems & Environment* **257**:159-164. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.02.011>
- da Costa, P. B., J. D. van Elsas, C. Mallon, L. G. dos Anjos Borges, and L. M. Pereira Passaglia. 2020. Efficiency of probiotic traits in plant inoculation is determined by environmental constrains. *Soil Biology and Biochemistry* **148**:107893. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107893>
- Dambreville, C., S. Hallet, C. Nguyen, T. Morvan, J.-C. Germon, and L. Philippot. 2006. Structure and activity of the denitrifying community in a maize-cropped field fertilized with composted pig manure or ammonium nitrate. *Fems Microbiology Ecology* **56**:119-131. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00064.x>
- Daynes, C. N., D. J. Field, J. A. Saleeba, M. A. Cole, and P. A. McGee. 2013. Development and stabilisation of soil structure via interactions between organic matter, arbuscular mycorrhizal fungi and plant roots. *Soil Biology and Biochemistry* **57**:683-694. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.09.020>
- de Graaff, M.-A., N. Hornslein, H. L. Throop, P. Kardol, and L. T. A. van Diepen. 2019. Chapter One - Effects of agricultural intensification on soil biodiversity and implications for ecosystem functioning: A meta-analysis. Pages 1-44 *in* D. L. Sparks, editor. *Advances in Agronomy*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2019.01.001>
- de Vries, F. T., P. Manning, J. R. B. Tallowin, S. R. Mortimer, E. S. Pilgrim, K. A. Harrison, P. J. Hobbs, H. Quirk, B. Shipley, J. H. C. Cornelissen, J. Kattge, and R. D. Bardgett. 2012. Abiotic drivers and plant traits explain landscape-scale patterns in soil microbial communities. *Ecology Letters* **15**:1230-1239. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2012.01844.x>
- de Vries, F. T., and M. D. Wallenstein. 2017. Below-ground connections underlying above-ground food production: a framework for optimising ecological connections in the rhizosphere. *Journal of Ecology* **105**:913-920. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12783>
- Demenois, J., F. Rey, T. Ibanez, A. Stokes, and F. Carriconde. 2018. Linkages between root traits, soil fungi and aggregate stability in tropical plant communities along a successional vegetation gradient. *Plant and Soil* **424**:319-334. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3529-x>

- Dennis, P. G., A. J. Miller, and P. R. Hirsch. 2010. Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities? *Fems Microbiology Ecology* **72**:313-327. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00860.x>
- Dequiedt, S., N. P. A. Saby, M. Lelievre, C. Jolivet, J. Thioulouse, B. Toutain, D. Arrouays, A. Bispo, P. Lemanceau, and L. Ranjard. 2011. Biogeographical patterns of soil molecular microbial biomass as influenced by soil characteristics and management. *Global Ecology and Biogeography* **20**:641-652. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2010.00628.x>
- Di Benedetto, N. A., M. R. Corbo, D. Campaniello, M. P. Cataldi, A. Bevilacqua, M. Sinigaglia, and Z. Flagella. 2017. The role of plant growth promoting bacteria in improving nitrogen use efficiency for sustainable crop production: a focus on wheat. *AIMS Microbiology* **3**:413. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2017.3.413>
- Dias, T., A. Dukes, and P. M. Antunes. 2015. Accounting for soil biotic effects on soil health and crop productivity in the design of crop rotations. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **95**:447-454. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6565>
- Dignac, M.-F., D. Derrien, P. Barré, S. Barot, L. Cécillon, C. Chenu, T. Chevallier, G. T. Freschet, P. Garnier, B. Guenet, M. Hedde, K. Klumpp, G. Lashermes, P.-A. Maron, N. Nunan, C. Roumet, and I. Basile-Doelsch. 2017. Increasing soil carbon storage: mechanisms, effects of agricultural practices and proxies. A review. *Agronomy for Sustainable Development* **37**:14. <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0421-2>
- Doornbos, R. F., L. C. van Loon, and P. A. H. M. Bakker. 2012. Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. A review. *Agronomy for Sustainable Development* **32**:227-243. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0028-y>
- Duru, M., O. Therond, and M. Fares. 2015. Designing agroecological transitions; A review. *Agronomy for Sustainable Development* **35**:1237-1257. <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0318-x>
- Ebrahimi, A. N., and D. Or. 2014. Microbial dispersal in unsaturated porous media: Characteristics of motile bacterial cell motions in unsaturated angular pore networks. *Water Resources Research* **50**:7406-7429. <https://doi.org/10.1002/2014WR015897>
- Egenolf, K., P. Schad, A. Arevalo, D. Villegas, J. Arango, H. Karwat, G. Cadisch, and F. Rasche. 2022. Inter-microbial competition for N and plant NO₃⁻ uptake rather than BNI determines soil net nitrification under intensively managed *Brachiaria humidicola*. *Biology and Fertility of Soils* **58**:307-319. <https://doi.org/10.1007/s00374-021-01606-9>
- Egerton-Warburton, L. M., N. C. Johnson, and E. B. Allen. 2007. Mycorrhizal community dynamics following nitrogen fertilization: A cross-site test in five grasslands. *Ecological Monographs* **77**:527-544. <https://doi.org/10.1890/06-1772.1>
- Ehdaie, B., D. J. Merhaut, S. Ahmadian, A. C. Hoops, T. Khuong, A. P. Layne, and J. G. Waines. 2010. Root System Size Influences Water-Nutrient Uptake and Nitrate Leaching Potential in Wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science* **196**:455-466. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2010.00433.x>
- Eisenhauer, N. 2012. Aboveground–belowground interactions as a source of complementarity effects in biodiversity experiments. *Plant and Soil* **351**:1-22. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-1027-0>
- Eisenhauer, N. 2016. Plant diversity effects on soil microorganisms: Spatial and temporal heterogeneity of plant inputs increase soil biodiversity. *Pedobiologia* **59**:175-177. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2016.04.004>
- Eisenhauer, N., H. Beßler, C. Engels, G. Gleixner, M. Habekost, A. Milcu, S. Partsch, A. C. W. Sabais, C. Scherber, S. Steinbeiss, A. Weigelt, W. W. Weisser, and S. Scheu. 2010. Plant diversity effects on soil microorganisms support the singular hypothesis. *Ecology* **91**:485-496. <https://doi.org/10.1890/08-2338.1>
- Eisenhauer, N., M. A. Bowker, J. B. Grace, and J. R. Powell. 2015. From patterns to causal understanding: Structural equation modeling (SEM) in soil ecology. *Pedobiologia* **58**:65-72. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2015.03.002>

- Engbersen, N., L. Stefan, R. W. Brooker, and C. Schöb. 2022. Using plant traits to understand the contribution of biodiversity effects to annual crop community productivity. *Ecological Applications* **32**:e02479. <https://doi.org/10.1002/eap.2479>
- Erktan, A., M. L. McCormack, and C. Roumet. 2018. Frontiers in root ecology: recent advances and future challenges. *Plant and Soil* **424**:1-9. <https://doi.org/10.1007/s11104-018-3618-5>
- Essington, M. E. 2003. *Soil and Water Chemistry: An Integrative Approach* (1st ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b12397>
- Evans, K. J., A. Terhorst, and B. H. Kang. 2017. From Data to Decisions: Helping Crop Producers Build Their Actionable Knowledge. *Critical Reviews in Plant Sciences* **36**:71-88. <https://doi.org/10.1080/07352689.2017.1336047>
- Exposito, R. G., I. de Bruijn, J. Postma, and J. M. Raaijmakers. 2017. Current Insights into the Role of Rhizosphere Bacteria in Disease Suppressive Soils. *Frontiers in Microbiology* **8**. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02529>
- Fan, K., C. Cardona, Y. Li, Y. Shi, X. Xiang, C. Shen, H. Wang, J. A. Gilbert, and H. Chu. 2017. Rhizosphere-associated bacterial network structure and spatial distribution differ significantly from bulk soil in wheat crop fields. *Soil Biology and Biochemistry* **113**:275-284. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.06.020>
- Fan, K. K., P. Weisenhorn, J. A. Gilbert, and H. Y. Chu. 2018a. Wheat rhizosphere harbors a less complex and more stable microbial co-occurrence pattern than bulk soil. *Soil Biology & Biochemistry* **125**:251-260. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.07.022>
- Fan, K. K., P. Weisenhorn, J. A. Gilbert, Y. Shi, Y. Bai, and H. Y. Chu. 2018b. Soil pH correlates with the co-occurrence and assemblage process of diazotrophic communities in rhizosphere and bulk soils of wheat fields. *Soil Biology & Biochemistry* **121**:185-192. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.03.017>
- Fan, Y., J. Chen, G. Shirkey, R. John, S. R. Wu, H. Park, and C. Shao. 2016. Applications of structural equation modeling (SEM) in ecological studies: an updated review. *Ecological Processes* **5**:19. <https://doi.org/10.1186/s13717-016-0063-3>
- Fargione, J. E., and D. Tilman. 2005. Diversity decreases invasion via both sampling and complementarity effects. *Ecology Letters* **8**:604-611. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00753.x>
- Faucon, M. P., D. Houben, and H. Lambers. 2017. Plant Functional Traits: Soil and Ecosystem Services. *Trends in Plant Science* **22**:385-394. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.01.005>
- Favela, A., M. O. Bohn, and A. D. Kent. 2021. Maize germplasm chronosequence shows crop breeding history impacts recruitment of the rhizosphere microbiome. *The ISME Journal* **15**:2454-2464. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-00923-z>
- Feeney, D. S., J. W. Crawford, T. Daniell, P. D. Hallett, N. Nunan, K. Ritz, M. Rivers, and I. M. Young. 2006. Three-dimensional Microorganization of the Soil–Root–Microbe System. *Microbial Ecology* **52**:151-158. <https://doi.org/10.1007/s00248-006-9062-8>
- Fierer, N., and R. B. Jackson. 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**:626-631. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507535103>
- Finzi, A. C., R. Z. Abramoff, K. S. Spiller, E. R. Brzostek, B. A. Darby, M. A. Kramer, and R. P. Phillips. 2015. Rhizosphere processes are quantitatively important components of terrestrial carbon and nutrient cycles. *Global Change Biology* **21**:2082-2094. <https://doi.org/10.1111/gcb.12816>
- Fischer, H., J. Ingwersen, and Y. Kuzyakov. 2010. Microbial uptake of low-molecular-weight organic substances out-competes sorption in soil. *European Journal of Soil Science* **61**:504-513. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2010.01244.x>
- Fort, F., P. Cruz, E. Lecloux, L. Bittencourt de Oliveira, C. Stroia, J.-P. Theau, and C. Jouany. 2016. Grassland root functional parameters vary according to a community-level resource acquisition–conservation trade-off. *Journal of Vegetation Science* **27**:749-758. <https://doi.org/10.1111/jvs.12405>

- Franche, C., K. Lindström, and C. Elmerich. 2009. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. *Plant and Soil* **321**:35-59. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9833-8>
- Freschet, G. T., L. Pages, C. M. Iversen, L. H. Comas, B. Rewald, C. Roumet, J. Klimesova, M. Zadworny, H. Poorter, J. A. Postma, T. S. Adams, A. Bagniewska-Zadworna, A. G. Bengough, E. B. Blancaflor, I. Brunner, J. H. C. Cornelissen, E. Garnier, A. Gessler, S. E. Hobbie, I. C. Meier, L. Mommer, C. Picon-Cochard, L. Rose, P. Ryser, M. Scherer-Lorenzen, N. A. Soudzilovskaia, A. Stokes, T. Sun, O. J. Valverde-Barrantes, M. Weemstra, A. Weigelt, N. Wurzbürger, L. M. York, S. A. Batterman, M. G. de Moraes, S. Janecek, H. Lambers, V. Salmon, N. Tharayil, and M. L. McCormack. 2021a. A starting guide to root ecology: strengthening ecological concepts and standardising root classification, sampling, processing and trait measurements. *New Phytologist* **232**:973-1122. <https://doi.org/10.1111/nph.17572>
- Freschet, G. T., and C. Roumet. 2017. Sampling roots to capture plant and soil functions. *Functional Ecology* **31**:1506-1518. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12883>
- Freschet, G. T., C. Roumet, L. H. Comas, M. Weemstra, A. G. Bengough, B. Rewald, R. D. Bardgett, G. B. De Deyn, D. Johnson, J. Klimesova, M. Lukac, M. L. McCormack, I. C. Meier, L. Pages, H. Poorter, I. Prieto, N. Wurzbürger, M. Zadworny, A. Bagniewska-Zadworna, E. B. Blancaflor, I. Brunner, A. Gessler, S. E. Hobbie, C. M. Iversen, L. Mommer, C. Picon-Cochard, J. A. Postma, L. Rose, P. Ryser, M. Scherer-Lorenzen, N. A. Soudzilovskaia, T. Sun, O. J. Valverde-Barrantes, A. Weigelt, L. M. York, and A. Stokes. 2021b. Root traits as drivers of plant and ecosystem functioning: current understanding, pitfalls and future research needs. *New Phytologist* **232**:1123-1158. <https://doi.org/10.1111/nph.17072>
- Freschet, G. T., E. M. Swart, and J. H. C. Cornelissen. 2015. Integrated plant phenotypic responses to contrasting above- and below-ground resources: key roles of specific leaf area and root mass fraction. *New Phytologist* **206**:1247-1260. <https://doi.org/10.1111/nph.13352>
- Galloway, A. F., J. Akhtar, S. E. Marcus, N. Fletcher, K. Field, and P. Knox. 2020. Cereal root exudates contain highly structurally complex polysaccharides with soil-binding properties. *Plant Journal* **103**:1666-1678. <https://doi.org/10.1111/tpj.14852>
- Garnier, E., and M.-L. Navas. 2012. A trait-based approach to comparative functional plant ecology: concepts, methods and applications for agroecology. A review. *Agronomy for Sustainable Development* **32**:365-399. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0036-y>
- Ge, T., X. Wei, B. S. Razavi, Z. Zhu, Y. Hu, Y. Kuzyakov, D. L. Jones, and J. Wu. 2017. Stability and dynamics of enzyme activity patterns in the rice rhizosphere: effects of plant growth and temperature. *Soil Biology and Biochemistry* **113**:108-115. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.06.005>
- Geertsema, W., W. A. Rossing, D. A. Landis, F. J. Bianchi, P. C. van Rijn, J. H. Schaminée, T. Tschardtke, and W. van der Werf. 2016. Actionable knowledge for ecological intensification of agriculture. *Frontiers in Ecology and Environment* **14**:209-216. <https://doi.org/10.1002/fee.1258>
- Geisseler, D., and K. M. Scow. 2014. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms – A review. *Soil Biology and Biochemistry* **75**:54-63. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.03.023>
- Gentsch, N., J. Boy, J. D. K. Batalla, D. Heuermann, N. von Wirén, D. Schwenecker, U. Feuerstein, J. Groß, B. Bauer, B. Reinhold-Hurek, T. Hurek, F. C. Céspedes, and G. Guggenberger. 2020. Catch crop diversity increases rhizosphere carbon input and soil microbial biomass. *Biology and Fertility of Soils* **56**:943-957. <https://doi.org/10.1007/s00374-020-01475-8>
- Gill, R. A., and R. B. Jackson. 2000. Global patterns of root turnover for terrestrial ecosystems. *New Phytologist* **147**:13-31. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00681.x>
- Godlee, J. L., C. M. Ryan, D. Bauman, S. J. Bowers, J. M. B. Carreiras, A. V. Chisingui, J. P. G. M. Cromsigt, D. J. Druce, M. Finckh, F. M. Gonçalves, R. M. Holdo, S. Makungwa, I. M. McNicol, E. T. A. Mitchard, A. Muchawona, R. Revermann, N. S. Ribeiro, A. Siampale, S. Syampungani, J. J. Tchamba, H. G. Tripathi, J. Wallenfang, M. te Beest, M. Williams, and K. G. Dexter. 2021. Structural diversity and tree density drives variation in the biodiversity–ecosystem function relationship of woodlands and savannas. *New Phytologist* **232**:579-594. <https://doi.org/10.1111/nph.17639>

- Gomez, E. J., J. A. Delgado, and J. M. Gonzalez. 2020. Environmental factors affect the response of microbial extracellular enzyme activity in soils when determined as a function of water availability and temperature. *Ecology and Evolution* **10**:10105-10115. <https://doi.org/10.1002/ece3.6672>
- Gould, I. J., J. N. Quinton, A. Weigelt, G. B. De Deyn, and R. D. Bardgett. 2016. Plant diversity and root traits benefit physical properties key to soil function in grasslands. *Ecology Letters* **19**:1140-1149. <https://doi.org/10.1111/ele.12652>
- Grace, J. B. 2006. *Structural Equation Modeling and Natural Systems*. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511617799>
- Grace, J. B., and K. A. Bollen. 2008. Representing general theoretical concepts in structural equation models: the role of composite variables. *Environmental and Ecological Statistics* **15**:191-213. <https://doi.org/10.1007/s10651-007-0047-7>
- Gray, E., and D. Smith. 2005. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. *Soil Biology and Biochemistry* **37**:395-412. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.08.030>
- Guber, A., A. Kravchenko, B. S. Razavi, D. Uteau, S. Peth, E. Blagodatskaya, and Y. Kuzyakov. 2018. Quantitative soil zymography: mechanisms, processes of substrate and enzyme diffusion in porous media. *Soil Biology Biochemistry* **127**:156-167. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.09.030>
- Guerra, C. A., R. D. Bardgett, L. Caon, T. W. Crowther, M. Delgado-Baquerizo, L. Montanarella, L. M. Navarro, A. Orgiazzi, B. K. Singh, L. Tedersoo, R. Vargas-Rojas, M. J. I. Briones, F. Buscot, E. K. Cameron, S. Cesarz, A. Chatzinotas, D. A. Cowan, I. Djukic, J. v. d. Hoogen, A. Lehmann, F. T. Maestre, C. Marín, T. Reitz, M. C. Rillig, L. C. Smith, F. T. d. Vries, A. Weigelt, D. H. Wall, and N. Eisenhauer. 2021. Tracking, targeting, and conserving soil biodiversity. *Science* **371**:239-241. <https://doi.org/10.1126/science.abd7926>
- Gutierrez, A., and M. A. Grillo. 2022. Effects of Domestication on Plant–Microbiome Interactions. *Plant and Cell Physiology* **63**:1654-1666. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcac108>
- Haichar, F. E., C. Santaella, T. Heulin, and W. Achouak. 2014. Root exudates mediated interactions belowground. *Soil Biology & Biochemistry* **77**:69-80. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.06.017>
- Hakim, S., T. Naqqash, M. S. Nawaz, I. Laraib, M. J. Siddique, R. Zia, M. S. Mirza, and A. Imran. 2021. Rhizosphere Engineering With Plant Growth-Promoting Microorganisms for Agriculture and Ecological Sustainability. *Frontiers in Sustainable Food Systems* **5**. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.617157>
- Haling, R. E., L. K. Brown, A. Stefanski, D. R. Kidd, M. H. Ryan, G. A. Sandral, T. S. George, H. Lambers, and R. J. Simpson. 2018. Differences in nutrient foraging among *Trifolium subterraneum* cultivars deliver improved P-acquisition efficiency. *Plant and Soil* **424**:539-554. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3511-7>
- Hartman, K., M. G. A. van der Heijden, R. A. Wittwer, S. Banerjee, J. C. Walser, and K. Schlaeppli. 2018. Cropping practices manipulate abundance patterns of root and soil microbiome members paving the way to smart farming. *Microbiome* **6**. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0389-9>
- Hartmann, A., M. Schmid, D. v. Tuinen, and G. Berg. 2009. Plant-driven selection of microbes. *Plant and Soil* **321**:235-257. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9814-y>
- Hassan, S., and U. Mathesius. 2012. The role of flavonoids in root–rhizosphere signalling: opportunities and challenges for improving plant–microbe interactions. *Journal of Experimental Botany* **63**:3429-3444. <https://doi.org/10.1093/jxb/err430>
- Helliwell, J. R., C. J. Sturrock, A. J. Miller, W. R. Whalley, and S. J. Mooney. 2019. The role of plant species and soil condition in the structural development of the rhizosphere. *Plant, Cell & Environment* **42**:1974-1986. <https://doi.org/10.1111/pce.13529>
- Hiltner, L. 1904. *Über nevere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Boden Bakteriologie und unter besonderer Beurchsichtigung der Grundungung und Broche. Arbeit. Deut. Landw. Ges. Berlin* **98**:59-78.

- Hinsinger, P. 2001. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant and Soil* **237**:173-195. <https://doi.org/10.1023/a:1013351617532>
- Hinsinger, P., M. J. Bell, J. L. Kovar, and P. J. White. 2021. Rhizosphere Processes and Root Traits Determining the Acquisition of Soil Potassium. Pages 99-117 in T. S. Murrell, R. L. Mikkelsen, G. Sulewski, R. Norton, and M. L. Thompson, editors. *Improving Potassium Recommendations for Agricultural Crops*. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-59197-7_4
- Hinsinger, P., A. G. Bengough, D. Vetterlein, and I. M. Young. 2009. Rhizosphere: biophysics, biogeochemistry and ecological relevance. *Plant and Soil* **321**:117-152. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9885-9>
- Hinsinger, P., A. Brauman, N. Devau, F. Gerard, C. Jourdan, J. P. Laclau, E. Le Cadre, B. Jaillard, and C. Plassard. 2011. Acquisition of phosphorus and other poorly mobile nutrients by roots. Where do plant nutrition models fail? *Plant and Soil* **348**:29-61. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-0903-y>
- Hinsinger, P., G. R. Gobran, P. J. Gregory, and W. W. Wenzel. 2005. Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root-mediated physical and chemical processes. *New Phytologist* **168**:293-303. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01512.x>
- Hinsinger, P., C. Plassard, C. X. Tang, and B. Jaillard. 2003. Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: A review. *Plant and Soil* **248**:43-59. <https://doi.org/10.1023/a:1022371130939>
- Holz, M., J. N. Becker, G. Daudin, and E. Oburger. 2020. Application of planar optodes to measure CO₂ gradients in the rhizosphere of unsaturated soils. *Rhizosphere* **16**:100266. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100266>
- Holz, M., M. Zarebanadkouki, A. Carminati, and Y. Kuzyakov. 2019. Visualization and quantification of root exudation using ¹⁴C imaging: challenges and uncertainties. *Plant and Soil* **437**:473-485. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-03956-8>
- Holz, M., M. Zarebanadkouki, Y. Kuzyakov, J. Pausch, and A. Carminati. 2017. Root hairs increase rhizosphere extension and carbon input to soil. *Annals of Botany* **121**:61-69. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx127>
- Hugoni, M., P. Luis, J. Guyonnet, and F. e. Z. Haichar. 2018. Plant host habitat and root exudates shape fungal diversity. *Mycorrhiza* **28**:451-463. <https://doi.org/10.1007/s00572-018-0857-5>
- Imperiali, N., X. Chiriboga, K. Schlaeppli, M. Fesselet, D. Villacres, G. Jaffuel, S. F. Bender, F. Dennert, R. Blanco-Perez, M. G. A. van der Heijden, M. Maurhofer, F. Mascher, T. C. J. Turlings, C. J. Keel, and R. Campos-Herrera. 2017. Combined Field Inoculations of Pseudomonas Bacteria, Arbuscular Mycorrhizal Fungi, and Entomopathogenic Nematodes and their Effects on Wheat Performance. *Frontiers in Plant Science* **8**. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01809>
- Irshad, U., C. Villenave, A. Brauman, and C. Plassard. 2011. Grazing by nematodes on rhizosphere bacteria enhances nitrate and phosphorus availability to Pinus pinaster seedlings. *Soil Biology and Biochemistry* **43**:2121-2126. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.06.015>
- Iversen, C. M., M. L. McCormack, A. S. Powell, C. B. Blackwood, G. T. Freschet, J. Kattge, C. Roumet, D. B. Stover, N. A. Soudzilovskaia, O. J. Valverde-Barrantes, P. M. van Bodegom, and C. Violle. 2017. A global Fine-Root Ecology Database to address below-ground challenges in plant ecology. *New Phytologist* **215**:15-26. <https://doi.org/10.1111/nph.14486>
- Jacoby, R., M. Peukert, A. Succurro, A. Koprivova, and S. Kopriva. 2017. The Role of Soil Microorganisms in Plant Mineral Nutrition—Current Knowledge and Future Directions. *Frontiers in Plant Science* **8**:1617. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01617>
- Jacquet, F., M.-H. Jeuffroy, J. Jouan, E. Le Cadre-Barthélemy, I. Litrico, M. Thibaud, X. Reboud, X., and C. Huyghe. 2022. Pesticide-free agriculture as a new paradigm for research. *J Agronomy for Sustainable Development* **42**. <https://doi.org/10.1007/s13593-021-00742-8>
- Jacquioud, S., T. Raynaud, E. Pimet, C. Ducourtieux, L. Casieri, D. Wipf, and M. Blouin. 2022. Wheat Rhizosphere Microbiota Respond to Changes in Plant Genotype, Chemical Inputs, and Plant

- Phenotypic Plasticity. *Frontiers in Ecology and Evolution* **10**.
<https://doi.org/10.3389/fevo.2022.903008>
- Jimenez, J. A., A. Novinscak, and M. Filion. 2020. Inoculation With the Plant-Growth-Promoting Rhizobacterium *Pseudomonas fluorescens* LBUM677 Impacts the Rhizosphere Microbiome of Three Oilseed Crops. *Frontiers in Microbiology* **11**.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.569366>
- Jones, D. L., and D. S. Brassington. 1998. Sorption of organic acids in acid soils and its implications in the rhizosphere. *European Journal of Soil Science* **49**:447-455. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2389.1998.4930447.x>
- Jones, D. L., C. Nguyen, and R. D. Finlay. 2009. Carbon flow in the rhizosphere: carbon trading at the soil–root interface. *Plant and Soil* **321**:5-33. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-9925-0>
- Joshi, S., B. Mohapatra, and J. Mishra. 2018. Microbial soil enzymes: implications in the maintenance of rhizosphere ecosystem and soil health. Pages 179-192 in T. K. Adhya, B. Lal, B. Mohapatra, D. Paul, and S. Das, editors. *Advances in Soil Microbiology: Recent Trends and Future Prospects*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6178-3_10
- Jousset, A., W. Schulz, S. Scheu, and N. Eisenhauer. 2011. Intraspecific genotypic richness and relatedness predict the invasibility of microbial communities. *The ISME Journal* **5**:1108-1114. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.9>
- Jungk, A. O. 2002. Dynamics of nutrient movement at the soil-root interface. Pages 919-1016 in Y. E. Waisel, A.; Kafkafi, U., editor. *Plant roots: the hidden half*. CRC Press.
- Kelting, D. L., J. A. Burger, and G. S. Edwards. 1998. Estimating root respiration, microbial respiration in the rhizosphere, and root-free soil respiration in forest soils. *Soil Biology and Biochemistry* **30**:961-968. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0038071797001867>
- Kibblewhite, M. G., K. Ritz, and M. J. Swift. 2008. Soil health in agricultural systems. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **363**:685-701. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2178>
- Kim, M., J. Peng, and K. Sung. 2020. Causality of climate and soil factors affecting whole crop rye (*Secale cereale* L.) yield as part of natural ecosystem structure via longitudinal structural equation model in the Republic of Korea. *Grassland Science* **66**:110-115. <https://doi.org/10.1111/grs.12253>
- Koebnick, N., K. R. Daly, S. D. Keyes, A. G. Bengough, L. K. Brown, L. J. Cooper, T. S. George, P. D. Hallett, M. Naveed, and A. Raffan. 2019. Imaging microstructure of the barley rhizosphere: particle packing and root hair influences. *New Phytologist* **221**:1878-1889. <https://doi.org/10.1111/nph.15516>
- Kohl, J., R. Kolnaar, and W. J. Ravensberg. 2019. Mode of Action of Microbial Biological Control Agents Against Plant Diseases: Relevance Beyond Efficacy. *Frontiers in Plant Science* **10**. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00845>
- Kohl, L., C. E. Lukasiewicz, and M. G. A. van der Heijden. 2016. Establishment and effectiveness of inoculated arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils. *Plant Cell and Environment* **39**:136-146. <https://doi.org/10.1111/pce.12600>
- Kong, H. G., G. C. Song, and C. M. Ryu. 2019. Inheritance of seed and rhizosphere microbial communities through plant-soil feedback and soil memory. *Environmental Microbiology Reports* **11**:479-486. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12760>
- Krause, S., X. Le Roux, P. A. Niklaus, P. M. Van Bodegom, J. T. Lennon, S. Bertilsson, H.-P. Grossart, L. Philippot, and P. L. E. Bodelier. 2014. Trait-based approaches for understanding microbial biodiversity and ecosystem functioning. *Frontiers in Microbiology* **5**. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00251>
- Kraut-Cohen, J., A. Zolti, L. Shaltiel-Harpaz, E. Argaman, R. Rabinovich, S. J. Green, and D. Minz. 2020. Effects of tillage practices on soil microbiome and agricultural parameters. *Science of the Total Environment* **705**:135791. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135791>
- Kumar, A., M. Shahbaz, M. Koirala, E. Blagodatskaya, S. J. Seidel, Y. Kuzyakov, and J. Pausch. 2019. Root trait plasticity and plant nutrient acquisition in phosphorus limited soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **182**:945-952. <https://doi.org/10.1002/jpln.201900322>

- Kuppe, C. W., A. Schnepf, E. von Lieres, M. Watt, and J. A. Postma. 2022. Rhizosphere models: their concepts and application to plant-soil ecosystems. *Plant and Soil* **474**:17-55. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-05201-7>
- Kuramae, E. E., E. Yergeau, L. C. Wong, A. S. Pijl, J. A. van Veen, and G. A. Kowalchuk. 2012. Soil characteristics more strongly influence soil bacterial communities than land-use type. *Fems Microbiology Ecology* **79**:12-24. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01192.x>
- Kuzyakov, Y., and E. Blagodatskaya. 2015. Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept & review. *Soil Biology & Biochemistry* **83**:184-199. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.01.025>
- Kuzyakov, Y., and A. A. Larionova. 2005. Root and rhizomicrobial respiration: A review of approaches to estimate respiration by autotrophic and heterotrophic organisms in soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **168**:503-520. <https://doi.org/10.1002/jpln.200421703>
- Kuzyakov, Y., and B. S. Razavi. 2019. Rhizosphere size and shape: Temporal dynamics and spatial stationarity. *Soil Biology & Biochemistry* **135**:343-360. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.05.011>
- Laliberte, E. 2017. Below-ground frontiers in trait-based plant ecology. *New Phytologist* **213**:1597-1603. <https://doi.org/10.1111/nph.14247>
- Lamb, E. G., S. J. Shirliff, and W. E. May. 2011. Structural equation modeling in the plant sciences: An example using yield components in oat. *Canadian Journal of Plant Science* **91**:603-619. <https://doi.org/10.4141/cjps2010-035>
- Lambers, H., J. A. Raven, G. R. Shaver, and S. E. Smith. 2008. Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. *Trends in Ecology & Evolution* **23**:95-103. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.10.008>
- Landl, M., M. Phalempin, S. Schlüter, D. Vetterlein, J. Vanderborght, E. Kroener, and A. Schnepf. 2021. Modeling the Impact of Rhizosphere Bulk Density and Mucilage Gradients on Root Water Uptake. *Frontiers in Agronomy* **3**. <https://doi.org/10.3389/fagro.2021.622367>
- Lange, M., N. Eisenhauer, C. A. Sierra, H. Bessler, C. Engels, R. I. Griffiths, P. G. Mellado-Vázquez, A. A. Malik, J. Roy, S. Scheu, S. Steinbeiss, B. C. Thomson, S. E. Trumbore, and G. Gleixner. 2015. Plant diversity increases soil microbial activity and soil carbon storage. *Nature Communications* **6**:6707. <https://doi.org/10.1038/ncomms7707>
- Laubach, Z. M., E. J. Murray, K. L. Hoke, R. J. Safran, and W. Perng. 2021. A biologist's guide to model selection and causal inference. **288**:20202815. <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.2815>
- Laughlin, D., and J. Grace. 2019. Discoveries and novel insights in ecology using structural equation modeling. *Ideas in Ecology and Evolution* **12**. <https://doi.org/10.24908/iee.2019.12.5.c>
- Lavorel, S., S. Díaz, J. H. C. Cornelissen, E. Garnier, S. P. Harrison, S. McIntyre, J. G. Pausas, N. Pérez-Harguindeguy, C. Roumet, and C. Urcelay. 2007. Plant functional types: are we getting any closer to the Holy Grail? Pages 149-164 *Terrestrial ecosystems in a changing world*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-540-32730-1_13
- Lavorel, S., and É. Garnier. 2002. Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail. *Functional Ecology* **16**:545-556. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2435.2002.00664.x>
- Le Bissonnais, Y., I. Prieto, C. Roumet, J. Nespoulous, J. Metayer, S. Huon, M. Villatoro, and A. Stokes. 2018. Soil aggregate stability in Mediterranean and tropical agro-ecosystems: effect of plant roots and soil characteristics. *Plant and Soil* **424**:303-317. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3423-6>
- Le Cadre, E. 2022. Des alliées sous nos pieds. Rencontres agroécologiques de l'ouest organisées par la chaire AEI.
- Lemanceau, P., P. Bauer, S. Kraemer, and J.-F. Briat. 2009. Iron dynamics in the rhizosphere as a case study for analyzing interactions between soils, plants and microbes. *Plant and Soil* **321**:513-535. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0039-5>
- Lemanceau, P., M. Blouin, D. Muller, and Y. Moënne-Loccoz. 2017. Let the Core Microbiota Be Functional. *Trends in Plant Science* **22**:583-595. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.04.008>

- Lemanceau, P., P.-A. Maron, S. Mazurier, C. Mougel, B. Pivato, P. Plassart, L. Ranjard, C. Revellin, V. Tardy, and D. Wipf. 2015. Understanding and managing soil biodiversity: a major challenge in agroecology. *Agronomy for Sustainable Development* **35**:67-81. <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0247-0>
- Lepinay, C. 2013. Etude des interactions plantes-microbes et microbes-microbes au sein de la rhizosphère, sous un aspect coûts-bénéfices, dans un contexte de variation environnementale. Université de Bourgogne.
- Liao, M., J. A. Palta, and I. R. P. Fillery. 2006. Root characteristics of vigorous wheat improve early nitrogen uptake *Australian Journal of Agricultural Research* **57**:1097-1107. <https://doi.org/10.1071/AR05439>
- Ling, N., T. Wang, and Y. Kuzyakov. 2022. Rhizosphere bacteriome structure and functions. *Nature Communications* **13**:836. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28448-9>
- Ling, N., C. Zhu, C. Xue, H. Chen, Y. Duan, C. Peng, S. Guo, and Q. Shen. 2016. Insight into how organic amendments can shape the soil microbiome in long-term field experiments as revealed by network analysis. *Soil Biology and Biochemistry* **99**:137-149. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.05.005>
- Liu, H., T. Colombi, O. Jäck, A. Westerbergh, and M. Weih. 2022a. Linking wheat nitrogen use to root traits: Shallow and thin embryonic roots enhance uptake but reduce conversion efficiency of nitrogen. *Field Crops Research* **285**:108603. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2022.108603>
- Liu, S., F. He, Y. Kuzyakov, H. Xiao, D. T. T. Hoang, S. Pu, and B. S. Razavi. 2022b. Nutrients in the rhizosphere: A meta-analysis of content, availability, and influencing factors. *Science of the Total Environment* **826**:153908. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153908>
- Loehlin, J. C., and A. A. Beaujean. 2017. *Latent Variable Models: An Introduction to Factor, Path, and Structural Equation Analysis*, Fifth Edition Routledge. <https://doi.org/10.4324/9781315643199>
- López-Bucio, J., A. Cruz-Ramirez, and L. Herrera-Estrella. 2003. The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Current Opinion in Plant Biology* **6**:280-287. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(03\)00035-9](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(03)00035-9)
- Luster, J., R. Finlay, and I. Brunner. 2006. *Handbook of methods used in rhizosphere research*. Swiss Federal Research Institute WSL. https://www.dora.lib4ri.ch/wsl/islandora/object/wsl%3A10495/datastream/PDF/Luster-2006-Handbook_of_methods_used_in-%28published_version%29.pdf
- Luster, J., A. Göttlein, B. Nowack, and G. Sarret. 2009. Sampling, defining, characterising and modeling the rhizosphere—the soil science tool box. *Plant and Soil* **321**:457-482. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9781-3>
- Lynch, J. M. 1994. VIEWPOINT The rhizosphere - form and function. *Applied Soil Ecology* **1**:193-198. [https://doi.org/10.1016/0929-1393\(94\)90010-8](https://doi.org/10.1016/0929-1393(94)90010-8)
- Lynch, J. M., and J. M. Whipps. 1990. Substrate flow in the rhizosphere. *Plant and Soil* **129**:1-10. <https://doi.org/10.1007/BF00011685>
- Lynch, J. P. 2011. Root Phenotypes for Enhanced Soil Exploration and Phosphorus Acquisition: Tools for Future Crops. *Plant Physiology* **156**:1041-1049. <https://doi.org/10.1104/pp.111.175414> %J Plant Physiology
- Lynch, J. P. 2019. Root phenotypes for improved nutrient capture: an underexploited opportunity for global agriculture. *New Phytologist* **223**:548-564. <https://doi.org/10.1111/nph.15738>
- Lynch, J. P., S. J. Mooney, C. F. Strock, and H. M. Schneider. 2022. Future roots for future soils. *Plant, Cell & Environment* **45**:620-636. <https://doi.org/10.1111/pce.14213>
- Lynch, J. P., C. F. Strock, H. M. Schneider, J. S. Sidhu, I. Ajmera, T. Galindo-Castañeda, S. P. Klein, and M. T. Hanlon. 2021. Root anatomy and soil resource capture. *Plant and Soil* **466**:21-63. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-05010-y>
- Ma, X., M. Zarebanadkouki, Y. Kuzyakov, E. Blagodatskaya, J. Pausch, and B. S. Razavi. 2018. Spatial patterns of enzyme activities in the rhizosphere: Effects of root hairs and root radius. *Soil Biology and Biochemistry* **118**:69-78. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.12.009>

- Marin, M., D. S. Feeney, L. K. Brown, M. Naveed, S. Ruiz, N. Koebernick, A. G. Bengough, P. D. Hallett, T. Roose, J. Puértolas, I. C. Dodd, and T. S. George. 2020. Significance of root hairs for plant performance under contrasting field conditions and water deficit. *Annals of Botany* **128**:1-16. <https://doi.org/10.1093/aob/mcaa181>
- Marschner, P., and Z. Rengel. 2012. Chapter 12 - Nutrient Availability in Soils. Pages 315-330 in P. Marschner, editor. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants* (Third Edition). Academic Press, San Diego. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00012-1>
- Martin, A. R., and M. E. Isaac. 2015. Plant functional traits in agroecosystems: a blueprint for research. *Journal of Applied Ecology* **52**:1425-1435. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12526>
- Matesanz, S., and R. Milla. 2018. Differential plasticity to water and nutrients between crops and their wild progenitors. *Environmental and Experimental Botany* **145**:54-63. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.10.014>
- Matos, A., L. Kerkhof, and J. L. Garland. 2005. Effects of Microbial Community Diversity on the Survival of *Pseudomonas aeruginosa* in the Wheat Rhizosphere. *Microbial Ecology* **49**:257-264. <https://doi.org/10.1007/s00248-004-0179-3>
- McCormack, M. L., I. A. Dickie, D. M. Eissenstat, T. J. Fahey, C. W. Fernandez, D. Guo, H.-S. Helmisaari, E. A. Hobbie, C. M. Iversen, R. B. Jackson, J. Leppälammil-Kujansuu, R. J. Norby, R. P. Phillips, K. S. Pregitzer, S. G. Pritchard, B. Rewald, and M. Zadworny. 2015. Redefining fine roots improves understanding of below-ground contributions to terrestrial biosphere processes. *New Phytologist* **207**:505-518. <https://doi.org/10.1111/nph.13363>
- Meisam, N. 2021. Plant mucilage components and their functions in the rhizosphere. *Rhizosphere* **v. 18**:pp. 100344--102021 v.100318. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100344>
- Mendes, R., P. Garbeva, and J. M. Raaijmakers. 2013. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews* **37**:634-663. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12028>
- Menezes-Blackburn, D., C. Giles, T. Darch, T. S. George, M. Blackwell, M. Stutter, C. Shand, D. Lumsdon, P. Cooper, R. Wendler, L. Brown, D. S. Almeida, C. Wearing, H. Zhang, and P. M. Haygarth. 2018. Opportunities for mobilizing recalcitrant phosphorus from agricultural soils: a review. *Plant and Soil* **427**:5-16. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3362-2>
- Milla, R., C. P. Osborne, M. M. Turcotte, and C. Violle. 2015. Plant domestication through an ecological lens. *Trends in Ecology & Evolution* **30**:463-469. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2015.06.006>
- Morel, J. L., L. Habib, S. Plantureux, and A. Guckert. 1991. Influence of maize root mucilage on soil aggregate stability. *Plant and Soil* **136**:111-119. <https://doi.org/10.1007/bf02465226>
- Morgan, J. A. W., G. D. Bending, and P. J. White. 2005. Biological costs and benefits to plant-microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* **56**:1729-1739. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri205>
- Morgan, J. A. W., and J. M. Whipps. 2000. Study of Rhizosphere Carbon Flow and Microbial Population Dynamics. Page 373 in Roberto Pinton, Zeno Varanini, and P. Nannipieri, editors. *The Rhizosphere : Biochemistry and Organic Substances at the Soil-Plant Interface*, Second Edition. CRC Press, Boca Raton. <https://doi.org/10.1201/9781420005585>
- Morugán-Coronado, A., P. Pérez-Rodríguez, E. Insolia, D. Soto-Gómez, D. Fernández-Calviño, and R. Zornoza. 2022. The impact of crop diversification, tillage and fertilization type on soil total microbial, fungal and bacterial abundance: A worldwide meta-analysis of agricultural sites. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **329**:107867. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2022.107867>
- Mougel, C., P. Offre, L. Ranjard, T. Corberand, E. Gamalero, C. Robin, and P. Lemanceau. 2006. Dynamic of the genetic structure of bacterial and fungal communities at different developmental stages of *Medicago truncatula* Gaertn. cv. Jemalong line J5. *New Phytologist* **170**:165-175. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01650.x>
- Munoz-Ucros, J., M. J. Zwetsloot, C. Cuellar-Gempeler, and T. L. Bauerle. 2021. Spatiotemporal patterns of rhizosphere microbiome assembly: From ecological theory to agricultural application. *Journal of Applied Ecology* **58**:894-904. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13850>

- Nannipieri, P., L. Giagnoni, L. Landi, and G. Renella. 2011. Role of Phosphatase Enzymes in Soil. Pages 215-243 in E. K. Bunemann, A. Oberson, and E. Frossard, editors. *Phosphorus in Action: Biological Processes in Soil Phosphorus Cycling*. Springer-Verlag Berlin, Berlin. https://doi.org/10.1007/978-3-642-15271-9_9
- Naylor, D., and D. Coleman-Derr. 2018. Drought Stress and Root-Associated Bacterial Communities. *Frontiers in Plant Science* **8**. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02223>
- Nguyen, C. 2009. Rhizodeposition of Organic C by Plants: Mechanisms and Controls. in N. M. Lichtfouse E, Debaeke P, Véronique S, Alberola C editor. *Sustainable Agriculture*. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-90-481-2666-8_9
- Oburger, E., and H. Schmidt. 2016. New Methods To Unravel Rhizosphere Processes. *Trends in Plant Science* **21**:243-255. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.12.005>
- Oburger, E., H. Schmidt, and C. Staudinger. 2022. Harnessing belowground processes for sustainable intensification of agricultural systems. *Plant and Soil* **478**:177-209. <https://doi.org/10.1007/s11104-022-05508-z>
- Oleghe, E., M. Naveed, E. M. Baggs, and P. D. Hallett. 2017. Plant exudates improve the mechanical conditions for root penetration through compacted soils. *Plant and Soil* **421**:19-30. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3424-5>
- Osmont, K. S., R. Sibout, and C. S. Hardtke. 2007. Hidden branches: developments in root system architecture. *Annual Review of Plant Biology* **58**:93-113. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.58.032806.104006>
- Ostonen, I., Ü. Püttsepp, C. Biel, O. Alberton, M. R. Bakker, K. Löhmus, H. Majdi, D. Metcalfe, A. F. M. Olsthoorn, A. Pronk, E. Vanguelova, M. Weih, and I. Brunner. 2007. Specific root length as an indicator of environmental change. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* **141**:426-442. <https://doi.org/10.1080/11263500701626069>
- Oyewole, O. A., E. Inselsbacher, and T. Näsholm. 2014. Direct estimation of mass flow and diffusion of nitrogen compounds in solution and soil. *New Phytologist* **201**:1056-1064. <https://doi.org/10.1111/nph.12553>
- Parniske, M. 2008. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology* **6**:763-775. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1987>
- Pausch, J., J. Tian, M. Riederer, and Y. Kuzyakov. 2013. Estimation of rhizodeposition at field scale: upscaling of a ¹⁴C labeling study. *Plant and Soil* **364**:273-285. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1363-8>
- Pearl, J., G. Isabelle, J. Dominik, and S. Bernhard. 2010. An Introduction to Causal Inference. *The International Journal of Biostatistics* **6**:39--58. <https://doi.org/10.2202/1557-4679.1203>
- Peng, X., R. Horn, and P. Hallett. 2015. Soil structure and its functions in ecosystems: Phase matter & scale matter. *Soil Tillage Research* **146**:1-3. <https://doi.org/10.1016/j.still.2014.10.017>
- Pérez-Jaramillo, J. E., V. J. Carrión, M. de Hollander, and J. M. Raaijmakers. 2018. The wild side of plant microbiomes. *Microbiome* **6**:143. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0519-z>
- Pérez-Jaramillo, J. E., R. Mendes, and J. M. Raaijmakers. 2016. Impact of plant domestication on rhizosphere microbiome assembly and functions. *Plant Molecular Biology* **90**:635-644. <https://doi.org/10.1007/s11103-015-0337-7>
- Philippot, L., J. M. Raaijmakers, P. Lemanceau, and W. H. Van Der Putten. 2013. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology* **11**:789-799. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3109>
- Pieterse, C. M. J., C. Zamioudis, R. L. Berendsen, D. M. Weller, S. C. M. V. Wees, and P. A. H. M. Bakker. 2014. Induced Systemic Resistance by Beneficial Microbes. *Annual Review of Phytopathology* **52**:347-375. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102340>
- Podar, D., and F. J. M. Maathuis. 2022. The role of roots and rhizosphere in providing tolerance to toxic metals and metalloids. *Plant Cell and Environment* **45**:719-736. <https://doi.org/10.1111/pce.14188>
- Poole, P. 2017. Shining a light on the dark world of plant root-microbe interactions. *PNAS* **114**:4281-4283. <https://doi.org/10.1073/pnas.1703800114>

- Poorter, H., H. Lambers, and J. R. Evans. 2014. Trait correlation networks: a whole-plant perspective on the recently criticized leaf economic spectrum. *New Phytologist* **201**:378-382. <https://doi.org/10.1111/nph.12547>
- Poorter, H., K. J. Niklas, P. B. Reich, J. Oleksyn, P. Poot, and L. Mommer. 2012. Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. *New Phytologist* **193**:30-50. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03952.x>
- Postma, J. A., A. Dathe, and J. P. Lynch. 2014. The Optimal Lateral Root Branching Density for Maize Depends on Nitrogen and Phosphorus Availability. *Plant Physiology* **166**:590-602. <https://doi.org/10.1104/pp.113.233916>
- Preece, C., and J. Peñuelas. 2020. A Return to the Wild: Root Exudates and Food Security. *Trends in Plant Science* **25**:14-21. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.09.010>
- Raaijmakers, J. M., and M. Mazzola. 2012. Diversity and Natural Functions of Antibiotics Produced by Beneficial and Plant Pathogenic Bacteria. *Annual Review of Phytopathology* **50**:403-424. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-081211-172908>
- Rachwał, K., K. Gustaw, W. Kazimierczak, and A. Waśko. 2021. Is soil management system really important? comparison of microbial community diversity and structure in soils managed under organic and conventional regimes with some view on soil properties. *Plos One* **16**:e0256969. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256969>
- Radville, L., M. L. McCormack, E. Post, and D. M. Eissenstat. 2016. Root phenology in a changing climate. *Journal of Experimental Botany* **67**:3617-3628. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw062>
- Ramirez, K. S., J. M. Craine, and N. Fierer. 2012. Consistent effects of nitrogen amendments on soil microbial communities and processes across biomes. *Global Change Biology* **18**:1918-1927. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2012.02639.x>
- Raudales, R. E., E. Stone, and B. B. McSpadden Gardener. 2009. Seed Treatment with 2,4-Diacetylphloroglucinol-Producing Pseudomonads Improves Crop Health in Low-pH Soils by Altering Patterns of Nutrient Uptake. *Phytopathology* **99**:506-511. <https://doi.org/10.1094/phyto-99-5-0506>
- Razavi, B. S., M. Zarebanadkouki, E. Blagodatskaya, and Y. Kuzyakov. 2016. Rhizosphere shape of lentil and maize: Spatial distribution of enzyme activities. *Soil Biology and Biochemistry* **96**:229-237. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2016.02.020>
- Razavi, B. S., X. Zhang, N. Bilyera, A. Guber, and M. Zarebanadkouki. 2019. Soil zymography: Simple and reliable? Review of current knowledge and optimization of the method. *Rhizosphere* **11**:100161. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2019.100161>
- Read, D. B., and P. J. Gregory. 1997. Surface tension and viscosity of axenic maize and lupin root mucilages. *New Phytologist* **137**:623-628. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1997.00859.x>
- Rengel, Z., and P. Marschner. 2005. Nutrient availability and management in the rhizosphere: exploiting genotypic differences. *New Phytologist* **168**:305-312. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01558.x>
- Richardson, A. E., J. M. Barea, A. M. McNeill, and C. Prigent-Combaret. 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil* **321**:305-339. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-9895-2>
- Rillig, M. C. 2004. Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem processes. *Ecology Letters* **7**:740-754. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00620.x>
- Rossmann, M., J. E. Perez-Jaramillo, V. N. Kavamura, J. B. Chiamonte, K. Dumack, A. M. Fiore-Donno, L. W. Mendes, M. M. Ferreira, M. Bonkowski, and J. M. Raaijmakers. 2020. Multitrophic interactions in the rhizosphere microbiome of wheat: from bacteria and fungi to protists. *Fems Microbiology Ecology* **96**:fiae032. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiae032>
- Rouatt, J. W., H. Katznelson, and T. M. B. Payne. 1960. Statistical Evaluation of the Rhizosphere Effect. *Soil Science Society of America Journal* **24**:271-273. <https://doi.org/10.2136/sssaj1960.03615995002400040017x>

- Roumet, C., C. Urcelay, and S. Díaz. 2006. Suites of root traits differ between annual and perennial species growing in the field. *New Phytologist* **170**:357-368. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01667.x>
- Rovira, A. D. 1969. Plant root exudates. *Botanical Review* **35**:35-57. <https://doi.org/10.1007/bf02859887>
- Salomon, M. J., S. J. Watts-Williams, M. J. McLaughlin, H. Bücking, B. K. Singh, I. Hutter, C. Schneider, F. M. Martin, M. Vosatka, L. Guo, T. Ezawa, M. Saito, S. Declerck, Y.-G. Zhu, T. Bowles, L. K. Abbott, F. A. Smith, T. R. Cavagnaro, and M. G. A. van der Heijden. 2022. Establishing a quality management framework for commercial inoculants containing arbuscular mycorrhizal fungi. *iScience* **25**:104636. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104636>
- Scherer-Lorenzen, M., C. Palmberg, A. Prinz, and E.-D. Schulze. 2003. The role of plant diversity and composition for nitrate leaching in grasslands. *Ecology* **84**:1539-1552. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2003\)084\[1539:TROPDA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2003)084[1539:TROPDA]2.0.CO;2)
- Schimel, J. P., and J. Bennett. 2004. Nitrogen mineralization: challenges of a changing paradigm. *Ecology* **85**:591-602. <https://doi.org/10.1890/03-8002>
- Schlatter, D., L. Kinkel, L. Thomashow, D. Weller, and T. Paulitz. 2017. Disease Suppressive Soils: New Insights from the Soil Microbiome. *Phytopathology* **107**:1284-1297. <https://doi.org/10.1094/phyto-03-17-0111-rvw>
- Schmid, M. W., T. Hahl, S. J. van Moorsel, C. Wagg, G. B. De Deyn, and B. Schmid. 2019. Feedbacks of plant identity and diversity on the diversity and community composition of rhizosphere microbiomes from a long-term biodiversity experiment. *Molecular Ecology* **28**:863-878. <https://doi.org/10.1111/mec.14987>
- Schmidt, J. E., A. D. Kent, V. L. Brisson, and A. C. M. Gaudin. 2019. Agricultural management and plant selection interactively affect rhizosphere microbial community structure and nitrogen cycling. *Microbiome* **7**:18. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0756-9>
- Schneider, H. M., and J. P. Lynch. 2020. Should Root Plasticity Be a Crop Breeding Target? *Frontiers in Plant Science* **11**. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00546>
- Schneijderberg, M., X. Cheng, C. Franken, M. de Hollander, R. van Velzen, L. Schmitz, R. Heinen, R. Geurts, W. H. van der Putten, T. M. Bezemer, and T. Bisseling. 2020. Quantitative comparison between the rhizosphere effect of *Arabidopsis thaliana* and co-occurring plant species with a longer life history. *The ISME Journal* **14**:2433-2448. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-0695-2>
- Sebillotte, M. 1990. Systeme de culture, un concept operatoire pour les agronomes. Les systemes de culture. INRA, Paris (france). <https://hal.inrae.fr/hal-02852812>
- Shen, Q., Z. Wen, Y. Dong, H. Li, Y. Miao, and J. Shen. 2018. The responses of root morphology and phosphorus-mobilizing exudations in wheat to increasing shoot phosphorus concentration. *Aob Plants* **10**. <https://doi.org/10.1093/aobpla/ply054>
- Shipley, B. 1997. Exploratory Path Analysis with Applications in Ecology and Evolution. *The American Naturalist* **149**:1113-1138. <https://doi.org/10.1086/286041>
- Shipley, B. 2016. Cause and correlation in biology: a user's guide to path analysis, structural equations and causal inference with R. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139979573>
- Singh, A., S. Kiran, S. Saurabh, and S. Kumari. 2022. Chapter 22 - Rhizosphere engineering for crop improvement. Pages 417-444 in R. C. Dubey and P. Kumar, editors. *Rhizosphere Engineering*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89973-4.00008-9>
- Sposito, G. 2016. The chemistry of soils Third Edition. Oxford university press. <https://doi.org/10.1093/oso/9780190630881.001.0001>
- Steinauer, K., A. Chatzinotas, and N. Eisenhauer. 2016. Root exudate cocktails: the link between plant diversity and soil microorganisms? *Ecology and Evolution* **6**:7387-7396. <https://doi.org/10.1002/ece3.2454>
- Steinauer, K., D. Tilman, P. D. Wragg, S. Cesarz, J. M. Cowles, K. Pritsch, P. B. Reich, W. W. Weisser, and N. Eisenhauer. 2015. Plant diversity effects on soil microbial functions and enzymes are

- stronger than warming in a grassland experiment. *Ecology* **96**:99-112. <https://doi.org/10.1890/14-0088.1>
- Steinweg, J. M., J. S. Dukes, and M. D. Wallenstein. 2012. Modeling the effects of temperature and moisture on soil enzyme activity: Linking laboratory assays to continuous field data. *Soil Biology & Biochemistry* **55**:85-92. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.06.015>
- Stringlis, I. A., K. Yu, K. Feussner, R. de Jonge, S. Van Bentum, M. C. Van Verk, R. L. Berendsen, P. A. H. M. Bakker, I. Feussner, and C. M. J. Pieterse. 2018. MYB72-dependent coumarin exudation shapes root microbiome assembly to promote plant health. *PNAS* **115**:E5213-E5222. <https://doi.org/10.1073/pnas.1722335115>
- Sun, X. L., Z. H. Xu, J. Y. Xie, V. Hesselberg-Thomsen, T. M. Tan, D. Y. Zheng, M. L. Strube, A. Dragos, Q. R. Shen, R. F. Zhang, and A. T. Kovacs. 2021a. *Bacillus velezensis* stimulates resident rhizosphere *Pseudomonas stutzeri* for plant health through metabolic interactions. *Isme Journal*. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01125-3>
- Sun, Y., H. D. Zang, T. Splettstosser, A. Kumar, X. L. Xu, Y. Kuzyakov, and J. Pausch. 2021b. Plant intraspecific competition and growth stage alter carbon and nitrogen mineralization in the rhizosphere. *Plant Cell and Environment*:12. <https://doi.org/10.1111/pce.13945>
- Sun, Z., Q. Chen, X. Han, R. Bol, B. Qu, and F. Meng. 2018. Allocation of photosynthesized carbon in an intensively farmed winter wheat–soil system as revealed by ¹⁴CO₂ pulse labelling. *Scientific Reports* **8**:3160. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21547-y>
- Tamburini, G., R. Bommarco, T. C. Wanger, C. Kremen, M. G. Van Der Heijden, M. Liebman, and S. Hallin. 2020. Agricultural diversification promotes multiple ecosystem services without compromising yield. *Science Advances* **6**:eaba1715. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aba171>
- Tang, X., L. Bernard, A. Brauman, T. Daufresne, P. Deleporte, D. Desclaux, G. Souche, S. A. Placella, and P. Hinsinger. 2014. Increase in microbial biomass and phosphorus availability in the rhizosphere of intercropped cereal and legumes under field conditions. *Soil Biology and Biochemistry* **75**:86-93. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.04.001>
- Tian, P., B. S. Razavi, X. Zhang, Q. Wang, and E. Blagodatskaya. 2020. Microbial growth and enzyme kinetics in rhizosphere hotspots are modulated by soil organics and nutrient availability. *Soil Biology and Biochemistry* **141**:107662. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.107662>
- Tibi, A., and O. Therond. 2018. *Services écosystémiques fournis par les espaces agricoles*. éditions Quae. <https://doi.org/10.35690/978-2-7592-2917-8>
- Tilman, D., C. Balzer, J. Hill, and B. L. Befort. 2011. Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *PNAS* **108**:20260-20264. <https://doi.org/10.1073/pnas.1116437108>
- Tinker, P. B., and P. H. Nye. 2000. *Solute movement in the rhizosphere*. Oxford University Press. <https://academic.oup.com/book/40998>
- Tittonell, P. 2014. Ecological intensification of agriculture—sustainable by nature. *Current Opinion in Environmental Sustainability* **8**:53-61. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2014.08.006>
- Trap, J., M. Bonkowski, C. Plassard, C. Villenave, and E. Blanchart. 2016. Ecological importance of soil bacterivores for ecosystem functions. *Plant and Soil* **398**:1-24. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2671-6>
- Tribouillois, H., F. Fort, P. Cruz, R. Charles, O. Flores, E. Garnier, and E. Justes. 2015. A Functional Characterisation of a Wide Range of Cover Crop Species: Growth and Nitrogen Acquisition Rates, Leaf Traits and Ecological Strategies. *Plos One* **10**:e0122156. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122156>
- Trivedi, P., M. Delgado-Baquerizo, C. Trivedi, K. Hamonts, I. C. Anderson, and B. K. Singh. 2017. Keystone microbial taxa regulate the invasion of a fungal pathogen in agro-ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry* **111**:10-14. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.03.013>
- Trivedi, P., J. E. Leach, S. G. Tringe, T. Sa, and B. K. Singh. 2020. Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nature Reviews Microbiology* **18**:607-621. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0412-1>

- Tsiafouli, M. A., E. Thébault, S. P. Sgardelis, P. C. de Ruiter, W. H. van der Putten, K. Birkhofer, L. Hemerik, F. T. de Vries, R. D. Bardgett, M. V. Brady, L. Bjornlund, H. B. Jørgensen, S. Christensen, T. D. Hertefeldt, S. Hotes, W. H. Gera Hol, J. Frouz, M. Liiri, S. R. Mortimer, H. Setälä, J. Tzanopoulos, K. Uteseny, V. Pižl, J. Stary, V. Wolters, and K. Hedlund. 2015. Intensive agriculture reduces soil biodiversity across Europe. *Global Change Biology* **21**:973-985. <https://doi.org/10.1111/gcb.12752>
- Uteau, D., S. Hafner, S. K. Pagenkemper, S. Peth, G. L. B. Wiesenberg, Y. Kuzyakov, and R. Horn. 2015. Oxygen and redox potential gradients in the rhizosphere of alfalfa grown on a loamy soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **178**:278-287. <https://doi.org/10.1002/jpln.201300624>
- Valé, M., C. Nguyen, E. Dambrine, and J. L. Dupouey. 2005. Microbial activity in the rhizosphere soil of six herbaceous species cultivated in a greenhouse is correlated with shoot biomass and root C concentrations. *Soil Biology and Biochemistry* **37**:2329-2333. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.04.014>
- van der Heijden, M. G., F. M. Martin, M. A. Selosse, and I. R. Sanders. 2015. Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. *New Phytologist* **205**:1406-1423. <https://doi.org/10.1111/nph.13288>
- van der Heijden, M. G. A., R. D. Bardgett, and N. M. Van Straalen. 2008. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters* **11**:296-310. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x>
- van der Heijden, M. G. A., and M. Hartmann. 2016. Networking in the Plant Microbiome. *PLOS Biology* **14**:e1002378. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002378>
- van der Putten, W. H., R. D. Bardgett, J. D. Bever, T. M. Bezemer, B. B. Casper, T. Fukami, P. Kardol, J. N. Klironomos, A. Kulmatiski, J. A. Schweitzer, K. N. Suding, T. F. J. Van de Voorde, and D. A. Wardle. 2013. Plant–soil feedbacks: the past, the present and future challenges. *Journal of Ecology* **101**:265-276. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12054>
- van Elsas, J. D., M. Chiurazzi, C. A. Mallon, D. Elhottová, V. Křišťůfek, and J. F. Salles. 2012. Microbial diversity determines the invasion of soil by a bacterial pathogen. *PNAS* **109**:1159-1164. <https://doi.org/10.1073/pnas.1109326109>
- Vance, C. P., C. Uhde-Stone, and D. L. Allan. 2003. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist* **157**:423-447. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00695.x>
- Veen, G. F., E. L. Fry, F. C. ten Hooven, P. Kardol, E. Morriën, and J. R. De Long. 2019. The Role of Plant Litter in Driving Plant-Soil Feedbacks. *Frontiers in Environmental Science* **7**. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2019.00168>
- Venter, Z. S., K. Jacobs, and H. J. Hawkins. 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>
- Venturi, V., and C. Keel. 2016. Signaling in the Rhizosphere. *Trends in Plant Science* **21**:187-198. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.005>
- Verbon, E. H., and L. M. Liberman. 2016. Beneficial Microbes Affect Endogenous Mechanisms Controlling Root Development. *Trends in Plant Science* **21**:218-229. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.013>
- Vetterlein, D., A. Carminati, and A. Schnepf. 2022. Special issue: Rhizosphere spatiotemporal organisation: an integrated approach linking above and belowground. *Plant and Soil* **478**:1-4. <https://doi.org/10.1007/s11104-022-05716-7>
- Vetterlein, D., and R. Jahn. 2004. Gradients in soil solution composition between bulk soil and rhizosphere – In situ measurement with changing soil water content. *Plant and Soil* **258**:307-327. <https://doi.org/10.1023/B:PLSO.0000016560.84772.d1>
- Violle, C., M. L. Navas, D. Vile, E. Kazakou, C. Fortunel, I. Hummel, and E. Garnier. 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos* **116**:882-892. <https://doi.org/10.1111/j.2007.0030-1299.15559.x>
- Wade, J., S. W. Culman, J. A. R. Logan, H. Poffenbarger, M. S. Demyan, J. H. Grove, A. P. Mallarino, J. M. McGrath, M. Ruark, and J. R. West. 2020. Improved soil biological health increases corn

- grain yield in N fertilized systems across the Corn Belt. *Scientific Reports* **10**:3917. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60987-3>
- Wallenstein, M. D. 2017. Managing and manipulating the rhizosphere microbiome for plant health: A systems approach. *Rhizosphere* **3**:230-232. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2017.04.004>
- Wang, L., Z. Rengel, K. Zhang, K. Jin, Y. Lyu, L. Zhang, L. Cheng, F. Zhang, and J. Shen. 2022. Ensuring future food security and resource sustainability: insights into the rhizosphere. *iScience* **25**:104168. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104168>
- Wang, Z., L. Liu, Q. Chen, X. Wen, Y. Liu, J. Han, and Y. Liao. 2017. Conservation tillage enhances the stability of the rhizosphere bacterial community responding to plant growth. *Agronomy for Sustainable Development* **37**:44. <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0454-6>
- Warmink, J. A., R. Nazir, B. Corten, and J. D. van Elsas. 2011. Hitchhikers on the fungal highway: The helper effect for bacterial migration via fungal hyphae. *Soil Biology and Biochemistry* **43**:760-765. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.12.009>
- Watt, M., W. K. Silk, and J. B. Passioura. 2006. Rates of root and organism growth, soil conditions, and temporal and spatial development of the rhizosphere. *Annals of Botany* **97**:839-855. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl028>
- Weemstra, M., G. T. Freschet, A. Stokes, and C. Roumet. 2021. Patterns in intraspecific variation in root traits are species-specific along an elevation gradient. *Functional Ecology* **35**:342-356. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13723>
- Weigelt, A., L. Mommer, K. Andraczek, C. M. Iversen, J. Bergmann, H. Bruelheide, Y. Fan, G. T. Freschet, N. R. Guerrero-Ramírez, J. Kattge, T. W. Kuyper, D. C. Laughlin, I. C. Meier, F. van der Plas, H. Poorter, C. Roumet, J. van Ruijven, F. M. Sabatini, M. Semchenko, C. J. Sweeney, O. J. Valverde-Barrantes, L. M. York, and M. L. McCormack. 2021. An integrated framework of plant form and function: the belowground perspective. *New Phytologist* **232**:42-59. <https://doi.org/10.1111/nph.17590>
- Weiner, J., Y.-L. Du, C. Zhang, X.-L. Qin, and F.-M. Li. 2017. Evolutionary agroecology: individual fitness and population yield in wheat (*Triticum aestivum*). *Ecology* **98**:2261-2266. <https://doi.org/10.1002/ecy.1934>
- Wen, Z., H. Li, Q. Shen, X. Tang, C. Xiong, H. Li, J. Pang, M. H. Ryan, H. Lambers, and J. Shen. 2019. Tradeoffs among root morphology, exudation and mycorrhizal symbioses for phosphorus-acquisition strategies of 16 crop species. *New Phytologist* **223**:882-895. <https://doi.org/10.1111/nph.15833>
- Wezel, A., B. G. Herren, R. B. Kerr, E. Barrios, A. L. R. Gonçalves, and F. Sinclair. 2020. Agroecological principles and elements and their implications for transitioning to sustainable food systems. A review. *Agronomy for Sustainable Development* **40**:40. <https://doi.org/10.1007/s13593-020-00646-z>
- Xomphoutheb, T., S. Jiao, X. X. Guo, F. S. Mabagala, B. Sui, H. B. Wang, L. P. Zhao, and X. M. Zhao. 2020. The effect of tillage systems on phosphorus distribution and forms in rhizosphere and non-rhizosphere soil under maize (*Zea mays* L.) in Northeast China. *Scientific Reports* **10**. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63567-7>
- Yang, J., J. W. Kloepper, and C. M. Ryu. 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in Plant Science* **14**:1-4. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.004>
- Yang, T., Z. Wei, V.-P. Friman, Y. Xu, Q. Shen, G. A. Kowalchuk, and A. Jousset. 2017. Resource availability modulates biodiversity-invasion relationships by altering competitive interactions. *Environmental Microbiology* **19**:2984-2991. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13708>
- York, L. M., A. Carminati, S. J. Mooney, K. Ritz, and M. J. Bennett. 2016. The holistic rhizosphere: integrating zones, processes, and semantics in the soil influenced by roots. *Journal of Experimental Botany* **67**:3629-3643. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw108>
- Young, I. M. 1998. Biophysical interactions at the root-soil interface: a review. *The Journal of Agricultural Science* **130**:1-7. <https://doi.org/10.1017/S002185969700498X>

- Yuan, J., J. Zhao, T. Wen, M. Zhao, R. Li, P. Goossens, Q. Huang, Y. Bai, J. M. Vivanco, G. A. Kowalchuk, R. L. Berendsen, and Q. Shen. 2018. Root exudates drive the soil-borne legacy of aboveground pathogen infection. *Microbiome* **6**:156. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0537-x>
- Zak, D. R., W. E. Holmes, D. C. White, A. D. Peacock, and D. Tilman. 2003. Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: Are there any links? *Ecology* **84**:2042-2050. <https://doi.org/10.1890/02-0433>
- Zarebanadkouki, M., T. Fink, P. Benard, and C. C. Banfield. 2019a. Mucilage facilitates nutrient diffusion in the drying rhizosphere. *Vadose Zone Journal* **18**:1-13. <https://doi.org/10.2136/vzj2019.02.0021>
- Zarebanadkouki, M., T. Fink, P. Benard, and C. C. Banfield. 2019b. Mucilage Facilitates Nutrient Diffusion in the Drying Rhizosphere. *Vadose Zone Journal* **18**. <https://doi.org/10.2136/vzj2019.02.0021>
- Zechmeister-Boltenstern, S., K. M. Keiblinger, M. Mooshammer, J. Penuelas, A. Richter, J. Sardans, and W. Wanek. 2015. The application of ecological stoichiometry to plant-microbial-soil organic matter transformations. *Ecological Monographs* **85**:133-155. <https://doi.org/10.1890/14-0777.1>
- Zeppenfeld, T., N. Balkenhol, K. Kóvacs, and A. Carminati. 2017. Rhizosphere hydrophobicity: A positive trait in the competition for water. *Plos One* **12**:e0182188. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182188>
- Zhalnina, K., K. B. Louie, Z. Hao, N. Mansoori, U. N. da Rocha, S. J. Shi, H. J. Cho, U. Karaoz, D. Loque, B. P. Bowen, M. K. Firestone, T. R. Northen, and E. L. Brodie. 2018. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. *Nature Microbiology* **3**:470-480. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0129-3>
- Zhou, Y., H. Zhu, S. Fu, and Q. Yao. 2017. Variation in Soil Microbial Community Structure Associated with Different Legume Species Is Greater than that Associated with Different Grass Species. *Frontiers in Microbiology* **8**. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01007>
- Zhu, Y. H., J. Weiner, M. X. Yu, and F. M. Li. 2019. Evolutionary agroecology: Trends in root architecture during wheat breeding. *Evolutionary Applications* **12**:733-743. <https://doi.org/10.1111/eva.12749>

Chapitre 2

Objectifs, problématique et stratégies de thèse

1. Identification des verrous scientifiques

Les systèmes agricoles intensifs spécialisés bien que très productifs sont responsables de dégradations environnementales ([Lemaire et al. 2014](#)). Dans les territoires où ces systèmes dominent, en Bretagne par exemple, un effort majeur de conception d'agroécosystèmes en rupture avec l'existant, doivent être incités ([Meynard and Jeuffroy 2014](#)). Afin de répondre à ces enjeux, l'état de l'art a mis en évidence la nécessité de repenser l'agronomie pour mieux intégrer le potentiel des interactions écologiques dans l'agroécosystème, en faisant appel à une diversité de disciplines notamment en écologie et en modélisation statistique. Pour autant, l'agronome doit disposer d'indicateurs pertinents complémentaires aux indicateurs physico chimiques et biologiques déjà existants, comme l'analyse de sol, mais adaptés aux systèmes agroécologiques basés sur les interactions écologiques. Dans cet objectif, la recherche de variables pertinentes décrivant l'intensité et le sens des interactions à piloter ou favoriser dans les systèmes agroécologiques peut être guidée par les connaissances expertes permettant de formaliser le système d'étude en identifiant les liens de causalité les plus importants. En écologie, le champ disciplinaire des statistiques développe activement des méthodes permettant de modéliser et d'inférer les relations causales d'un système complexe. Ce type de modélisation est essentiel pour développer une approche holistique du fonctionnement des agroécosystèmes. Par ailleurs, l'état de l'art a permis de mettre en évidence l'intérêt d'étudier la rhizosphère dans un contexte d'intensification écologique, mais l'étude du fonctionnement de la rhizosphère est complexe tant en termes de processus que de méthodes à mobiliser. Par conséquent, il reste délicat à ce jour de caractériser de manière synthétique et facilement interprétable, la contribution de l'effet rhizosphère aux performances des plantes cultivées, notamment pour les variétés élites. L'état de l'art démontre également que l'intensité de l'effet rhizosphère repose sur la qualité du sol, soumise aux (i) pratiques agricoles, comprenant le choix des espèces cultivées et les apports d'intrants de synthèse, mais également à (ii) des facteurs intrinsèques apparentés à la qualité des sols. Ainsi, l'effet rhizosphère est très variable d'une situation à l'autre, et dynamique dans le temps et l'espace, ce qui rend délicate l'identification des relations de causalité entre le fonctionnement de ce compartiment et les performances des plantes. Or, la détermination des relations de causalité est un verrou majeur qui limite les différents leviers de la conception de systèmes agroécologiques dans lesquels cette interface sol-plante pourrait intervenir. Face à ces défis de caractérisation de l'intensité de l'effet rhizosphère **[VERROU 1]** et d'identification des liens de causalité entre les propriétés de la rhizosphère et les performances des plantes **[VERROU 2]**, il est indispensable de disposer de méthodes qui permettent d'intégrer et de visualiser la connaissance experte. La visualisation est particulièrement importante car elle participe à l'effort de communication et d'élicitation d'expertises à mobiliser. Ainsi, le développement de méthodes de modélisation statistiques pour guider l'exploration et la formulation

d'hypothèses de causalité entre l'effet rhizosphère et les performances des plantes constitue également un verrou [VERROU3] d'identification de la pertinence de l'effet rhizosphère comme levier à actionner pour la transition agroécologique.

2. Construction de la problématique de la thèse

Pour lever ces verrous, l'objectif général de ma thèse est de caractériser l'intensité de l'effet rhizosphérique en parcelles agricoles, afin de ne pas surinterpréter celui-ci comme cela peut être le cas dans des conditions contrôlées, et de faire la preuve de concept de l'hypothèse de causalité entre les propriétés de la rhizosphère et les performances des plantes. Dans une démarche appliquée précisée dans le cadre professionnel de ma thèse, je pose le cadre de contrainte d'une estimation de l'effet rhizosphère à partir de mesures peu coûteuses, mais fiables scientifiquement afin de favoriser le transfert d'information et l'implémentation de mes travaux dans les changements de pratiques.

Ma question générique de recherche est la suivante :

La conception de systèmes de cultures fondée sur le paradigme d'une modernisation agroécologique forte nécessite-t-elle la prise en compte de l'effet rhizosphère ?

Elle se structure en deux sous-questions de recherche (Figure 2.1).

- ❖ **Sous-question 1 : La plante modifie-t-elle les propriétés du sol dans la rhizosphère induisant un fonctionnement différent du sol non influencé par les racines et ce, quelles que soient les pratiques agricoles ?**

Il a été identifié dans l'état de l'art que les plantes recrutent des organismes au sein de la rhizosphère à partir du microbiote du sol grâce aux fonctions remplies par la diversité des traits racinaires. Par ailleurs, selon l'espèce, le génotype et les pratiques agricoles, les modifications de la rhizosphère variaient dans le temps et l'espace. Ainsi, j'ai formulé les deux hypothèses suivantes dans l'objectif d'obtenir une estimation de l'effet rhizosphère, puis d'évaluer l'effet des pratiques sur cet effet rhizosphère.

- **Hypothèse 1 :** La plante est capable d'induire des modifications du fonctionnement du sol tout au long de son développement, indépendamment des boucles de rétroaction sol-plantes induites par la succession des cultures ou l'itinéraire technique.
- **Hypothèse 2 :** Les perturbations du fonctionnement du sol entier induites par le type de succession de cultures et le mode de gestion du sol modifient l'intensité de l'effet rhizosphère.

❖ **Sous-question 2 : Quelle est la contribution des propriétés de la rhizosphère impliquées dans la nutrition des plantes sur la performance du blé tendre ?**

En formulant cette sous question, je souhaite déterminer si la performance des plantes, définie comme la capacité à se développer, se reproduire et à survivre dans son environnement est influencée par les propriétés de la rhizosphère. Je formule l’hypothèse suivante afin de savoir s’il est possible de déterminer des relations directes et indirectes au sein de schémas causaux représentatifs du fonctionnement du système d’étude à l’aide de variables simples et descriptives des propriétés des sols et des traits des plantes.

- **Hypothèse 3** : Des hypothèses causales permettent de relier les propriétés de la rhizosphère, les traits racinaires et les parties aériennes du blé.

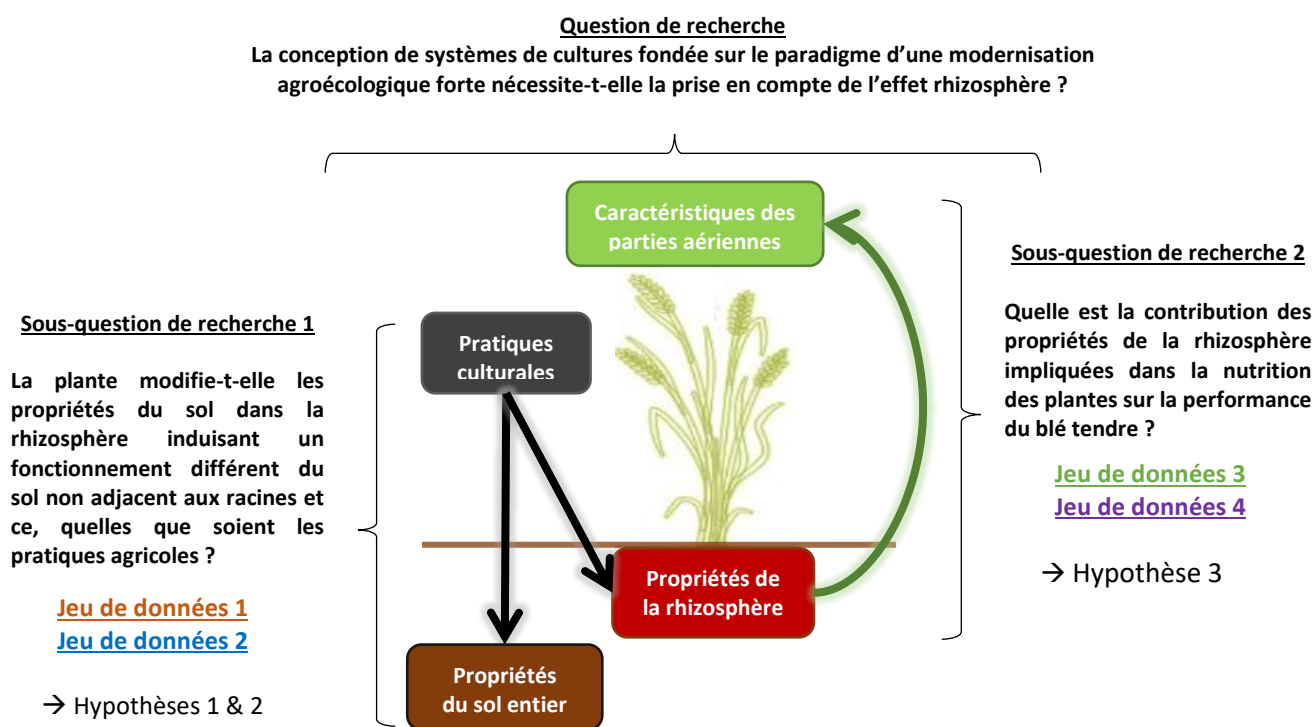


Figure 2.1 : Représentation schématique des questions de recherche abordées dans la thèse. Les jeux de données 1 et 2 vont permettre de caractériser l’effet rhizosphère sur les parcelles agricoles (sous-question de recherche 1), tandis que les jeux de données 3 et 4 vont permettre d’examiner les hypothèses causales du système sol-plante (sous-question de recherche 2).

3. Stratégies de recherche

Deux approches expérimentales et de modélisation statistique ont été développées en prenant le blé tendre (*Triticum aestivum*) comme modèle biologique. Cette espèce a été choisie car elle est majoritairement cultivée en France ([Agreste 2021](#)). En Bretagne, 237 660 ha étaient cultivés en blé

tendre en 2020, soit 14% de la Surface Agricole Utile de la région, pour un rendement moyen de 68 qx.ha⁻¹ (Agreste 2021). En accord avec les coopératives, la variété choisie est Absalon, inscrite en 2016 au catalogue des semences par le Groupe d'Etudes et de contrôle des Variétés Et des Semences (GEVES). A l'échelle nationale, c'est la 3^{ème} variété pure implantée en 2022 sur une superficie égale à 5.3 % de la SAU nationale ([Arvalis 2022](#)).

L'approche expérimentale (**hypothèses 1&2**) a été utilisée pour étudier l'effet rhizosphère sur un réseau de parcelles d'agriculteurs (Annexe 1 ; Figure 2.1). L'effet rhizosphère a été mesuré dans le **jeu de données 1** à l'aide de variables sélectionnées à partir de la littérature comme étant intégratives du fonctionnement de la rhizosphère et respectant le cadre de contrainte de la thèse. Dans le **jeu de données 2**, l'effet rhizosphère a été mesuré à l'aide des variables les plus informatives identifiées dans le premier jeu de données.

L'approche de modélisation a été développée grâce à des outils de modélisation par équations structurales afin d'étudier les liens directs et indirects du système d'étude sol-plante et formuler des hypothèses causales (**hypothèse 3**). Dans le cadre de la modélisation statistique, j'ai pris en compte trois composantes (rhizosphère, système racinaire, système aérien des plantes) et représenté les hypothèses causales entre elles (Figure 2.2) :

- **(A)** les caractéristiques de la composante racinaire peuvent à la fois modifier le fonctionnement de la rhizosphère ou être influencées par les propriétés de la rhizosphère. Les deux hypothèses ont été testées et sont représentées par les deux flèches qui traduisent une relation causale potentielle orientée de la composante racinaire vers la composante rhizosphérique ou inversement.
- **(B)** Nous avons fait l'hypothèse qu'il n'y avait pas de lien causal direct entre les composantes rhizosphérique et aérienne, donc la relation directe entre les deux est absente de nos modèles.
- **(C)** la composante racinaire influence directement la composante aérienne.

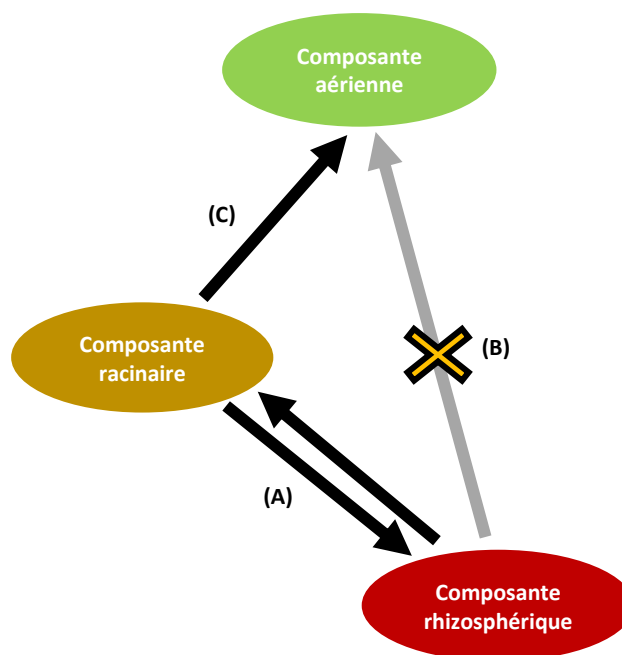


Figure 2.2 : Représentation schématique des relations testées entre les trois compartiments (ou composantes en terminologie des modèles par équation structurales) du système d'étude dans une approche exploratoire. Les flèches (A) et (C) indiquent les relations causales hypothétiques testées grâce à la modélisation par équations structurales entre les compartiments d'étude. La flèche (B) barrée par une croix indique que l'hypothèse a été faite au cours de la thèse que cette relation causale est absente.

Ainsi, les deux jeux de données sont composés de variables rhizosphère, de traits racinaires et de traits aériens des plantes. J'ai introduit deux traits racinaires (biomasse racinaire et longueur spécifique racinaire) comme proxys des propriétés de la rhizosphère et des traits aériens permettant de caractériser la performance aérienne du blé. Dans un premier temps, j'ai développé un cadre de travail à l'approche exploratoire de la modélisation par équations structurales à l'aide du jeu de donnée 3 acquis en conditions contrôlées pour identifier les relations causales entre les trois composantes d'étude (Figure 2.3). Les schémas causaux potentiels retenus lors de cette première étape ont ensuite été testés avec le **jeu de données 4** acquis sur une parcelle agricole (Figure 2.3). Ces deux jeux de données ayant été acquis sur des sols issus de la même parcelle, j'ai mené une analyse multi-échelle permettant de confronter les modèles aux deux jeux de données et tester le non-rejet d'hypothèses causales dans les deux conditions. Cette analyse multi-échelle doit permettre de déterminer si l'utilisation de l'approche de modélisation pour décrire un système d'étude sur le terrain est possible, afin de produire des connaissances actionnables.

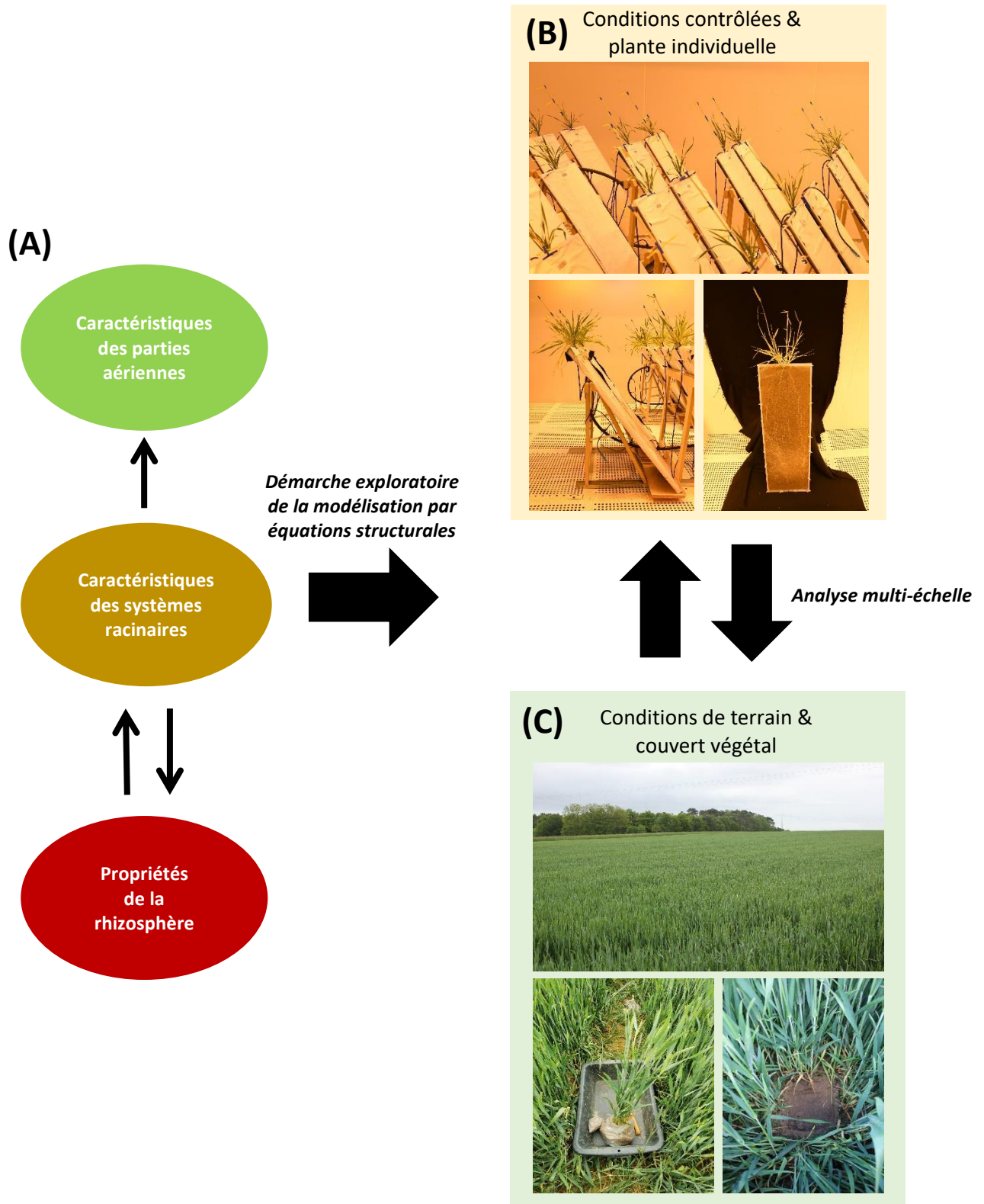


Figure 2.3 : Représentation synthétique des expérimentations menées dans l'approche de modélisation statistique. Les relations testées dans le système sol-plante (A) a été étudiée grâce à une démarche exploratoire menée sur des données collectées en conditions contrôlées et à l'échelle plante individuelle (B) et en conditions de terrain et à l'échelle couvert végétal (C). Une analyse multi-échelle nourrie par les données collectées lors des deux expérimentations a été réalisée pour tester les relations causales observées sur le système sol-plante.

4. Organisation du mémoire de thèse

La suite du manuscrit est composée du Matériel et méthodes général de la thèse. Puis, le manuscrit s'articule autour de deux parties :

- L'approche expérimentale divisée en deux chapitres de la thèse :
 - CHAPITRE 4 : Article publié dans la revue *Plant and Soil* en 2022 intitulé : **A field indicator for rhizosphere effect monitoring in arable soils**. Ce chapitre correspond au **jeu de données 1**.
 - CHAPITRE 5 : Article en préparation dans la revue *Ecological Applications* intitulé : **The plant -soil interplay of Nature-based Solutions : insight of a crop diversification gradient**. Ce chapitre correspond au **jeu de données 2**.
- L'approche de modélisation statistique divisée en deux chapitres de la thèse :
 - CHAPITRE 6 : Article en préparation dans la revue *Methods in Ecology and Evolution* intitulé : **Exploring a causal space of complex biological systems using Latent Structural Equation Modeling : a new framework**. Ce chapitre correspond au **jeu de données 3**.
 - CHAPITRE 7 : Résultats de l'analyse multi-échelle pour identifier des hypothèses causales grâce à deux jeux de données indépendants. Ce chapitre utilise le **jeu de données 3** collecté en conditions contrôlées (phytotron) et le **jeu de données 4** collecté en conditions d'expérimentation en parcelles agricoles.

Ces quatre chapitres sont suivis d'une discussion générale et des conclusions de la thèse.

Agreste. 2021. Agreste Essentiel n°10 : Les moissons d'été 2021. <https://draaf.bretagne.agriculture.gouv.fr>.

Arvalis. 2022. Répartition des variétés www.arvalis-infos.fr.

Lemaire, G., A. Franzluebbers, P. C. d. F. Carvalho, and B. Dedieu. 2014. Integrated crop–livestock systems: Strategies to achieve synergy between agricultural production and environmental quality. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **190**:4-8. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.08.009>

Meynard, J. M., and M.-H. Jeuffroy. 2014. Méthodes de conception de systèmes de culture innovants. Académie d'agriculture de France, Paris, France.

Chapitre 3

Matériel et méthodes

1. Présentation générale

Mon travail a été mené sur le territoire du Grand-Ouest (Annexe 1 ; Figure A1.1). Les exploitations des agriculteurs partenaires du projet se situent dans les départements de l'Ille-et-Vilaine (5 exploitations), du Morbihan (3 exploitations) et de Loire-Atlantique (1 exploitation). Ces exploitations en polyculture-élevage et en agriculture conventionnelle sont représentatives de l'agriculture pratiquée sur le territoire et ont été impliquées dans l'acquisition du **jeu de données 1** et du **jeu de données 2**. En partenariat avec l'UMR IGEPP, et le laboratoire dirigé par Guillaume Lobet (Université Catholique de Louvain), nous avons acquis le **jeu de données 3** en conditions contrôlées dans un phytotron, et sur la parcelle expérimentale BIODIVERSYSTEM située au Rheu (**jeu de données 4**) pilotée par Mme Nathalie Moutier (équipe Matériel Végétal Innovant). Le climat est océanique avec une température moyenne annuelle de 12°C et environ 750 mm de précipitations par an en Ille-et-Vilaine et en Loire Atlantique et 950 mm dans le Morbihan d'après les données issues de la plateforme INRAE CLIMATIK (<https://agroclim.inrae.fr/climatik/>)(Figure 3.1).

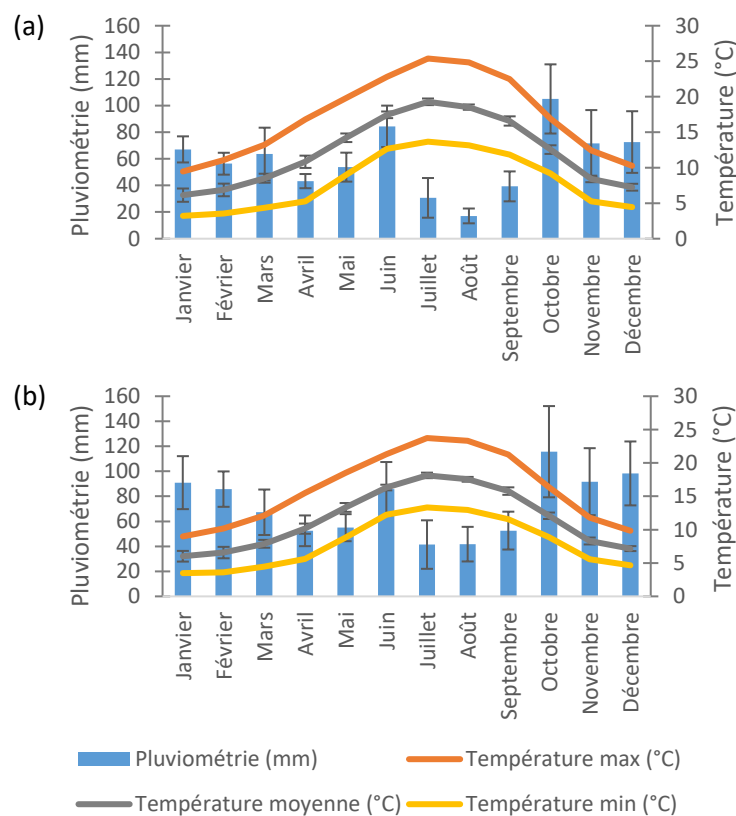


Figure 3.1 : Moyennes mensuelles de pluviométrie et de températures aux stations météorologiques INRAE (a) du Rheu (35) et (b) de Naizin (56) entre 2016 et 2021.

2. Sélection des parcelles d'étude

La caractérisation de l'effet rhizosphère a été réalisée sur des parcelles agricoles sélectionnées à partir d'une base de données de 47 exploitations agricoles adhérentes aux coopératives. Après enquête téléphonique, les exploitations intéressées pour rejoindre le réseau ont été géolocalisées et positionnées à l'aide du logiciel ArcGis et de la Base de Données des Analyses de Terre (www.gissol.fr/), et Sols de Bretagne (<http://www.sols-de-bretagne.fr/>). Les cartes obtenues ont permis d'identifier les propriétés des sols des exploitations afin de sélectionner des parcelles aux propriétés pédologiques similaires (Annexe 1 ; Figure A1.2, A1.3 ; Table A1.1). Sur l'ensemble des exploitations, le pH varie entre 6 et 6,98 sur le territoire d'étude, le carbone organique entre 11,7 et 26,9 g.kg⁻¹ et la CEC entre 7,0 et 11,0 cmol⁺.kg⁻¹. Après cette première étape, une enquête par questionnaire a été réalisée pour connaître les pratiques culturales et l'itinéraire technique du blé (Annexe 2). Enfin, d'autres critères ont été apportés pour sélectionner les parcelles (Table 3.1) :

- se situer à moins de 100km de Rennes pour faciliter la logistique lors de la collecte des échantillons,
- cultiver du blé tendre d'hiver,
- pratiquer un itinéraire technique conventionnel représentatif du territoire du Grand-Ouest,
- être bien discriminées selon l'indice de diversification.

L'indice de diversification est adapté de [Tiemann et al. \(2015\)](#) et permet de classer les parcelles et est calculé en multipliant le nombre d'espèces cultivées au cours de la succession culturale et le nombre moyen d'espèces cultivées au cours d'une période de temps correspondant à la durée de la succession la plus longue entre les différentes parcelles étudiées (Equation 3.1).

$$IDC = N_{\text{espèces}} \times \frac{N_{\text{espèces}}}{x}$$

Equation 3.1 : Indice de diversification des cultures (IDC) calculé en fonction du nombre d'espèces implantées au cours de la succession ($N_{\text{espèces}}$) et de la durée de la succession la plus longue parmi toutes les parcelles d'étude (x).

Au final, toutes les exploitations choisies se caractérisent par l'utilisation d'intrants chimiques pour la fertilisation et la protection phytosanitaire des cultures. Des herbicides sont appliqués au semis et à la reprise de la croissance végétative au printemps pour éliminer les adventices. Selon les conditions climatiques, des fongicides sont appliqués entre 0 et 3 fois de février à mai. Un apport fractionné de fertilisant minéral riche en azote est systématiquement appliqué et parfois un apport de phosphore et de potassium est appliqué à la culture.

Matériel et méthodes

Table 3.1 : Parcelles d'étude sélectionnées pour mener les expérimentations du chapitre 4 (*jeu de données 1*), du chapitre 5 (*jeu de données 2*) et du chapitre 7 (*jeu de données 4*). La liste complète des parcelles candidates proposées par les coopératives et enquêtées lors de cette thèse sont présentées en annexe 1 (Table A1.1). * Les données du chapitre 6 (*jeu de données 3*) sont issues du sol de la parcelle 10 prélevé dans le maïs le 22/07/2020.

		Parcelle 1	Parcelle 2	Parcelle 3	Parcelle 4	Parcelle 5	Parcelle 6	Parcelle 7	Parcelle 8	Parcelle 9	Parcelle 10	
<u>Description</u>	Coordonnées GPS	47°48'45.4"N 1°41'05.3"W	48°01'57.6"N 2°01'24.7"W	47°44'42.2"N 1°17'52.6"W	47°49'36.2"N 1°52'40.67"W	47°49'54.2"N 1°22'0.241"W	47°49'58.9"N 1°41'55.35"W	47°58'18.8"N 2°24'21.53"W	48°7'8.948"N 2°25'16.63"W	47°47'59.4"N 2°8'24.226"W	48°06'35.6"N 1°48'40.2"W	
	Commune	Bain-de-Bretagne	Treffendel	Soudan	Pipriac	Martigné-Ferchaud	Bain-de-Bretagne	Loyat	Ménéac	Carentoir	Le Rheu	
<u>Pratiques agricoles</u>	Travail du sol	Réduit	Réduit	Semis direct	Labour	Réduit	Réduit	Labour	Labour	Réduit	Labour	
	Rotation	Maïs - colza - blé	Couvert - maïs - orge - colza - trèfle violet - féverole - blé	Maïs - blé - colza - féverole - couvert - blé	Blé - RGI - maïs - blé	Blé - RGI - blé - RGI - maïs - blé	Couvert - Maïs - blé	Pois - blé - orge - couvert - maïs - blé	Orge - colza - blé - couvert - pois - couvert - maïs - blé	Colza - blé - RGH - trèfle violet - pois + blé + vesce - maïs - blé	Colza - maïs - féverole - blé - couvert1 - maïs - triticale - féverole - couvert2 - maïs* - blé	-
	Couvert végétal	RGI trèfle incarnat	Trèfle violet	Féverole + phacélie + trèfle Alexandrie + avoine	-	-	Phacélie + trèfle violet	Avoine + phacélie	Avoine + phacélie	-	1: phacélie + sarrasin 2: lupin + avoine + seigle	
	Indice de diversification	4	7,2	9,8	1,5	1,5	2,66	6	8,16	8,16	-	
	Variété de blé	Absalon	Fructidor	Arezzo & Cellule	Absalon	Absalon	Absalon	Absalon	Absalon	Absalon	Absalon	
	<u>Itinéraire technique du blé</u>	Espacement des rangs	15	A la volée	16.7	14,3	14	12	30	15	14,2	15
Densité semis (grains m ⁻²)		250	350	260	260	260	240	300	280	280	300	
Fertilisation N (kg ha ⁻¹)		165	210	136	140	107	139	157	140	146	66	
Fertilisation P (kg ha ⁻¹)		0	0	22	0	30	55	19	0	55	0	
Fertilisation K (kg ha ⁻¹)		0	0	0	0	60	0	0	0	0	0	
IFT herbicides		0,52	2,19	0,665	2,5	2	0,83	2,94	2,33	3,1	0	
IFT fongicides		0	1,06	3,4	0,4	0	0,67	0,79	0,89	0,81	0	
IFT insecticides	-	-	-	0,8	1	0,67	0	0	0,8	0		
<u>Propriétés des sols données de spatialisation</u>	CECMetson (cmol ⁺ .kg ⁻¹)	9,84	8,32	9,28	8,93	9,65	9,84	10,96	9,22	9,78	7	
	Corganique (g.kg ⁻¹)	19,01	17,28	19,37	18,98	17,35	19,01	26,94	18,47	19,39	11,9	
	pH _{H2O}	6,44	6,42	6,3	6,4	6,38	6,44	6,16	6,38	6,45	6,47	

3. Méthodes de prélèvements des échantillons de sol et de plantes

3.1. Prélèvements de sols

Jeu de données 1

L'étude présentée dans le chapitre 4 a été conduite d'avril à juin 2018 sur trois parcelles d'étude réparties sur les départements d'Ille-et-Vilaine et de Loire-Atlantique. Les parcelles se caractérisent selon trois niveaux de diversification des cultures (élevé, modéré ou faible). Sur chaque parcelle, une zone de prélèvements aux propriétés identiques mesurées à deux niveaux de profondeurs (0-30 cm et 30-60 cm) a été identifiée. Au sein de cette zone, deux parties ont été délimitées, l'une pour le prélèvement de la rhizosphère, et l'autre pour les prélèvements de sol non influencés par les racines qui a été désherbé manuellement en début de cycle (Figure 3.2). Toutes les deux semaines, des mesures et prélèvements ont été effectués sur les deux compartiments entre les stades phénologiques « élongation de la tige principale » (stade 30) et « maturation des grains » (stade 80) pour suivre l'évolution de l'effet rhizosphère au cours du temps ([Lancashire et al. 1991](#)).

Jeu de données 2

Dans ce jeu de données, 6 parcelles ont été cultivées avec la variété Absalon et sélectionnées selon un niveau de diversification des cultures (élevé ou faible) et le type de travail du sol pratiqué (labour ou travail réduit). Les analyses de sol réalisées par les agriculteurs ont été utilisées pour caractériser le sol de chaque parcelle d'étude. Les prélèvements de sol ont été réalisés dans une zone rhizosphère au stade « épiaison » (stade 50) et une zone sol entier après la récolte du blé en août (Figure 3.2). Ce stade de développement a été déterminé pour être identique au **jeu de données 3** et au **jeu de données 4**. Les échantillons de sol rhizosphère ont été analysés directement après la collecte des échantillons. Avant d'être analysés, les échantillons de sol entier ont été séchés à l'air libre pendant quatre mois puis incubés à 15°C pendant sept jours à une humidité correspondante à 80% de pF 2.

Matériel et méthodes

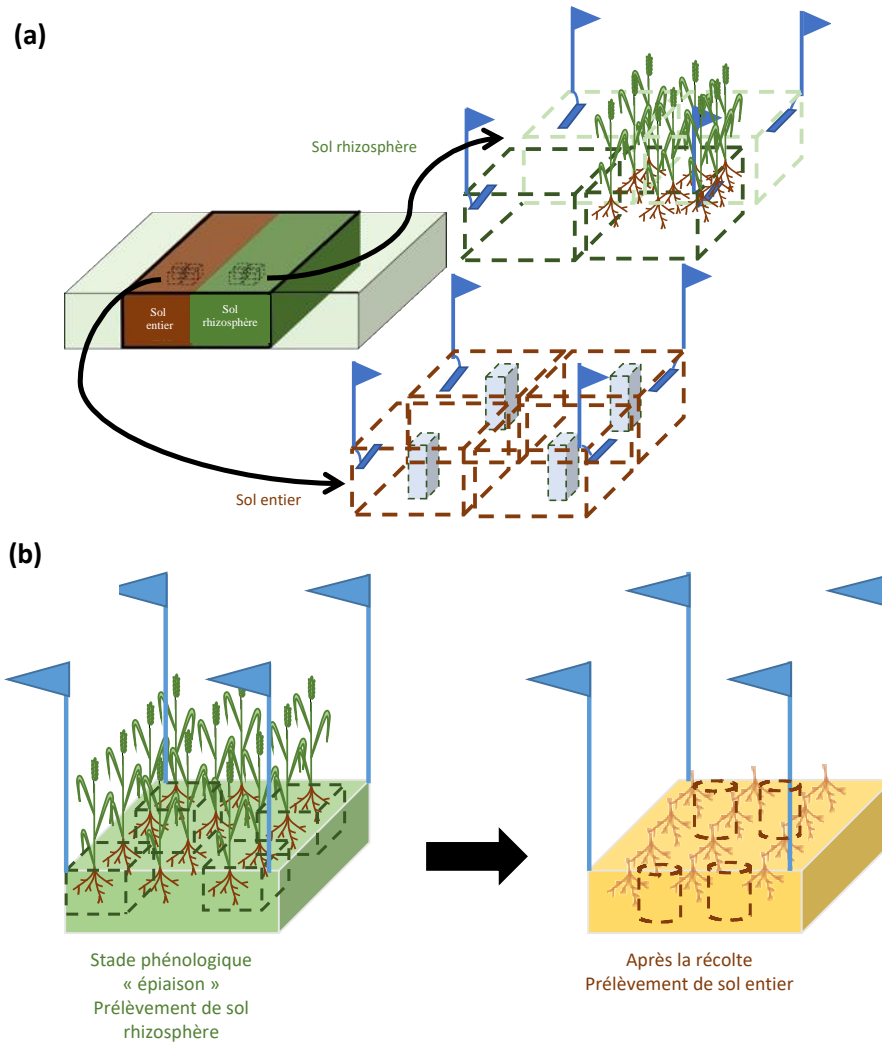


Figure 3.2 : Représentation schématique du dispositif expérimental utilisé pour réaliser les mesures sur le sol rhizosphérique et le sol entier pour l'étude réalisée dans (a) le chapitre 4 (*jeu de données 1*) et (b) le chapitre 5 (*jeu de données 2*).

Jeu de données 3

J'ai mis en place une expérimentation en conditions contrôlées afin (i) de réduire la variabilité du système d'étude due à des facteurs externes (climat, interaction plante-plante), (ii) d'augmenter le nombre de répétitions biologiques et améliorer la puissance d'estimation des paramètres des modèles par équation structurales (Partie 0. 6. Modélisation par équations structurales à variables latentes) et (iii) simplifier la mise en œuvre de l'expérimentation au laboratoire. Dans cette expérimentation, 55 plants de blé (*Triticum aestivum* var Absalon) ont été cultivés individuellement pendant une durée totale de 99 ou 100 jours (environ 1300° jours) dans des dispositifs rhizoboxes en plexiglass amovible fabriqués par la société Scientix (www.scientix35.com/). Chaque rhizobox a un volume utile de 1500 cm³ (100 x 30 x 0,5 cm Annexe 3, Figure A3.1) rempli d'un mélange de sol et de perlite

(www.massogarden.com/) préalablement homogénéisé pendant 5 min à l'aide d'une bétonnière en proportions volumiques 1/3 de sol pour 2/3 de perlite. Le sol est issu de la parcelle L404 de l'essai BIODIVERSYSTEM mené par l'INRAE et l'Unité Expérimentale de la Motte. Cette parcelle expérimentale est conduite en labour à 25 cm et fertilisée par des apports organiques et minéraux mais ne reçoit plus de traitements phytosanitaires depuis 2018. La collecte de sol a eu lieu le 22/07/2020 au sein d'un couvert de maïs. Après remplissage, les rhizoboxes sont entourés d'une bâche protégeant les racines et le sol de la lumière. L'humidité du substrat est maintenue à une humidité correspondante à 70% pF2 pendant douze jours afin de stabiliser le fonctionnement biologique du substrat suite à l'humectation. Les propriétés initiales du substrat ont été mesurées sur trois rhizoboxes par le laboratoire Celesta Lab (www.celesta-lab.fr/; Table 3.2). Après cette étape, deux graines de blé ont été semées à 2cm de la surface du rhizobox. Après deux jours, une des deux graines est retirée, en supprimant celle qui n'a pas germé ou la moins développée des deux. Puis, cinq jours après le semis, au stade 11 « une feuille étalée » de l'échelle BBCH, les rhizoboxes sont placés à vernalisation pendant cinq semaines dans une chambre de culture à 4°C avec un éclairage de 8 heures de jour à 225 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ et 16 heures de nuit. Les rhizoboxes sont ensuite aléatoirement placés sur des dispositifs de maintien à un angle de 55° dans un phytotron de 24 m² (Figure 3.3). Le phytotron a permis de maintenir des conditions optimales pour la croissance du blé (16 heures de jour à 20°C et 350 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ et 8 heures de nuit à 18°C, avec une hygrométrie de 50 %). Un suivi régulier de l'humidité du substrat a été effectué pour maintenir l'humidité pondérale à 70 +/- 5% de pF 2 par irrigation par goutte à goutte et capillarité afin de préserver une humidité homogène sur l'ensemble des rhizoboxes. Le stade de développement, le nombre de feuilles, le nombre de talles et la teneur en chlorophylle (SPAD-502Plus KONICA MINOLTA SENSING EUROPE B.V.) ont été mesurés tout au long de l'expérimentation. Une teneur équivalente à 60 kg N.ha⁻¹ a été apportée en deux fois à sept jours d'intervalle sur tous les rhizoboxes, au stade « élongation de la tige principale » (stade 30). Au stade « épiaison » (stade 50), soit 99 et 100 jours après la date de semis, les rhizoboxes ont été récoltés. Une photographie de chaque rhizobox a été effectuée dans des conditions standardisées afin de conserver une image de la forme et la taille de chaque plante à la fin de l'expérimentation. Les rhizoboxes ont ensuite été ouverts à plat et la zone périphérique (3 cm du bord de chaque rhizobox) a été éliminée. Le substrat entièrement colonisé par les racines est délicatement séparé des racines et considéré comme du sol rhizosphérique. Dans ce jeu de données, il n'y a pas de prélèvements de sol entier.

Matériel et méthodes

Table 3.2 : Analyses de sol effectuées sur trois rhizoboxes tests après 12 jours d'incubation à une humidité correspondant à 73% de pF 2.

	Rhizobox 1	Rhizobox 2	Rhizobox 3
Humidité pondérale	0,27	0,26	0,28
Densité apparente	1,3	1,3	1,3
Biomasse microbienne (mg C.kg ⁻¹)	329	139	292
Activité arylamidase (mU.g ⁻¹)	3,77	3,61	3,8
Activité b-glucosidase (mU.g ⁻¹)	10,23	9,62	10,46
Activité phosphatase acide (mU.g ⁻¹)	23,77	23,17	26,52
Activité phosphatase alcaline (mU.g ⁻¹)	14,23	12,2	12,94
Argiles (%)	16	17	16
Limons fins (%)	17	16	17
Limons grossiers (%)	52	53	52
Sables fins (%)	7	7	9
Sables grossiers (%)	8	7	7
pH _{H2O}	6,6	6,9	6,7
CEC Cobaltihexamine (cmol+.kg ⁻¹)	8,4	7,5	8,5
Matière organique totale (%)	2	1,9	2,1
Rapport C/N	10,6	8,6	9,5
Carbone total (g.kg ⁻¹)	11,9	11,1	12,2
Azote total (g.kg ⁻¹)	1,1	1,3	1,3
Phosphore Olsen (g.kg ⁻¹)	0,061	0,121	0,117
CaO (g.kg ⁻¹)	2	1,94	2,01
K ₂ O (g.kg ⁻¹)	0,211	0,214	0,187
MgO (g.kg ⁻¹)	0,113	0,114	0,108
Na ₂ O (g.kg ⁻¹)	0,027	0,024	0,027
Bore soluble (mg.kg ⁻¹)	0,23	0,24	0,23
Cuivre EDTA (mg.kg ⁻¹)	3,56	3,43	3,56
Manganèse EDTA (mg.kg ⁻¹)	33,56	31,8	33,56
Fer EDTA (mg.kg ⁻¹)	109,72	106,09	109,72
Zinc EDTA (mg.kg ⁻¹)	2,54	2,6	2,54



Figure 3.3 : Photographie des rhizoboxes et des dispositifs de maintien dans le phytotron de l'UMR IGEPP.

Jeu de données 4

Ce jeu de données a été acquis sur la parcelle L404 de l'essai BIODIVERSYSTEM au printemps 2021 (Figure 3.4). Sur cette parcelle, 30 échantillons de sol rhizosphérique ont été prélevés au niveau de la zone de collecte du sol utilisé lors de l'expérimentation en conditions contrôlées. Des blocs de sol de 25 x 25 x 12 cm ont été extraits au sein d'une culture de blé Absalon au stade « épiaison ». Les blocs de sol ont été collectés sur deux lignes de 15 m de long et espacées de 2 m. Sur chaque ligne, 15 blocs espacés d'un mètre ont été prélevés. Chaque bloc est numéroté et placé dans un sachet pour être transporté jusqu'au laboratoire. Le sol adhérent de l'ensemble des individus de blé présents dans les blocs, considéré comme sol rhizosphérique, a été prélevé pour réaliser les analyses. Ce jeu de données a donc été acquis sur le même type de sol (auquel de la perlite a été ajouté), pour la même variété de blé et le même stade de développement que le **jeu de données 3**.



Figure 3.4 : Image aérienne de la parcelle L404 de l'essai BIODIVERSYSTEM. Les deux lignes parallèles représentent les lignes de collecte des échantillons.

3.2. Prélèvements de plantes

Les systèmes racinaires des plants de chaque rhizobox (**jeu de données 3**) ou des plantes contenues dans le bloc de sol (**jeu de données 4**) sont lavés à l'eau et trois racines sont sélectionnées pour mesurer la longueur spécifique. Le reste du système racinaire est coupé au niveau du collet et les échantillons de feuilles, de tiges et d'épis sont également collectés et conditionnés dans des sachets pour déterminer la biomasse sèche après séchage à 70°C pendant deux jours.

4. Variables mesurées lors des expérimentations

Les variables ont été choisies selon leur pertinence pour décrire les processus étudiés et mener des expérimentations réalistes en termes de moyens humains et matériels.

4.1. Variables rhizosphère

Des mesures chimiques et biologiques des sols ont été effectuées sur les échantillons collectés pour caractériser l'effet rhizosphère grâce à différents paramètres impliqués dans la nutrition des plantes :

- les activités d'enzymes du sol (arylamidase ARA, β -glucosidase GLU et phosphatases acide PAC et alcaline PAK) qui sont des proxys du recyclage des nutriments,
- les flux de nitrates et de phosphates déterminés par incubation de membranes échangeuses d'anions permettant de quantifier la disponibilité des nutriments dans la solution du sol,

- la diversité et l'abondance relative des communautés microbiennes qui permettent d'estimer la richesse bactérienne et fongique des sols.

Les variables permettant de caractériser les propriétés de la rhizosphère et mesurées lors des expérimentations sont les activités enzymatiques de l'arylamidase, la β -glucosidase et les phosphatases acide et alcaline, la biomasse microbienne, le $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ et le P_{Olsen} . L'azote total n'a pas été mesuré car de l'azote minéral a été apporté lors des expérimentations.

A l'exception de l'analyse des activités enzymatiques effectuées par la plateforme Biochem-Env de l'UMR ECOSYS à Versailles (78) et le séquençage de l'ADN 16S et 18S par le laboratoire Genoscreen, j'ai réalisé l'ensemble des analyses de sol à l'UMR SAS ou à l'UMR IGEPP pour l'extraction de l'ADN des sols.

4.2. Variables plantes

Les variables plantes acquises sur les parties aériennes et racinaires ont permis de caractériser le fonctionnement des plantes dans l'approche de modélisation statistique uniquement. Les traits morphologiques des plantes ainsi que la biomasse végétative ont été choisis car ils sont relativement simples à mesurer, en comparaison à d'autres mesures de traits physiologiques ou phénologiques. Dans le **jeu de données 3**, les variables plantes sont mesurées au niveau de l'individu présent dans chaque rhizobox. Dans le **jeu de données 4**, les mesures sont effectuées sur trois plantes sélectionnées aléatoirement au sein du bloc de sol afin d'obtenir une moyenne pour chaque bloc de sol sur lequel le sol rhizosphérique a été prélevé.

4.2.1. Parties racinaires des plantes

Les traits racinaires mesurés au niveau des systèmes racinaires sont la longueur spécifique racinaire et la biomasse racinaire. Pour la mesure de longueur spécifique, le système racinaire complet de trois racines est utilisé pour mesurer cette variable qui correspond au ratio entre la longueur racinaire et la masse sèche. La longueur racinaire a été déterminée grâce au logiciel d'analyse d'images semi-automatique Smartroot ([Lobet et al. 2011](#)). La masse sèche des trois racines a été déterminée après séchage à 60°C pendant 72h. Les systèmes racinaires sont découpés au niveau du collet puis séchés à 60°C pendant 72 heures avant d'être pesés pour relever la biomasse sèche par plant (g.plant^{-1}). Les contraintes expérimentales sur le terrain et en microcosmes sont à l'origine de divergences sur la collecte des données. En effet, en rhizobox, l'ensemble du système racinaire est facilement accessible jusqu'à 1m de profondeur et peu de racines sont cassées lors de la collecte des échantillons. A l'inverse, les systèmes racinaires sont collectés entre 0 et 12 cm sur le terrain, et de nombreuses racines secondaires se cassent lors de la collecte. Ainsi, les mesures de biomasse et de longueur spécifique ne

se font pas sur le système racinaire complet, ce qui modifie la nature des variables sélectionnées entre les deux expérimentations.

4.2.2. Parties aériennes des plantes

Le concept de trait des plantes a également été utilisé pour caractériser les parties aériennes du blé permettant de caractériser les différents organes aériens des plantes. Au niveau des parties aériennes, les variables mesurées sont la biomasse des tiges, des feuilles et des épis. Le nombre d'épis a également été mesuré car il est directement associé au rendement du blé. De plus, ce trait de performance est l'une des variables composantes du rendement lorsqu'elle est ramenée à une unité de surface. Cette variable a été choisie car c'est la première composante du rendement à apparaître au cours du stade de développement du blé (stade « épiaison »). Le nombre de talles par plant est également mesuré car ce trait est associé au nombre d'épis par plant. Enfin, le nombre de feuilles photosynthétiquement actives par plant, la longueur et la largeur moyenne des feuilles et la surface foliaire ont été mesurés car ces traits permettent de caractériser la capacité des plantes à intercepter la lumière, et donc à réaliser la photosynthèse. Ainsi, tous ces traits sont directement ou indirectement associés à la performance des plantes. Concernant les parties aériennes, les méthodes utilisées pour mesurer les variables d'étude sont identiques entre les deux expérimentations utilisées pour l'approche de modélisation. La surface foliaire est déterminée à l'aide d'un planimètre optique (LI-3100C LI-COR Biosciences GmbH www.licor.com/). Après avoir été comptés, les tiges, les feuilles et les épis sont découpés puis séchés à 60°C pendant 72 heures avant d'être pesés pour relever la biomasse sèche des organes par plant (g.plant^{-1}).

5. Détermination de l'effet rhizosphère

5.1. Estimation de l'effet rhizosphère pour chaque variable mesurée

Jeu de données 1

L'effet rhizosphère a été défini par la différence entre la rhizosphère et le sol entier par variable mesurée dans chacun des compartiments. Dans le chapitre 4, la statistique du test t de Welch ([Welch 1947](#), [Zimmerman and Zumbo 1993](#)), permettant de comparer les moyennes de deux groupes (rhizosphère et sol entier) dont les variances sont inégales a été utilisé pour calculer l'effet rhizosphère à partir de données observées non appariées. Cet indicateur (REI ; Rhizosphere Effect Indicator) permet de calculer l'effet rhizosphère (Equation 3.2). L'effet rhizosphère a été calculé grâce au logiciel R version 4.0.3 ([R Development Core Team 2020](#)).

$$REI = \frac{(\alpha_{RS} - \alpha_{BS})}{\sqrt{\frac{variance_{RS}}{N_{RS}} + \frac{variance_{BS}}{N_{BS}}}}$$

Equation 3.2 : Indicateur de l'effet rhizosphère utilisé dans le chapitre 4. α , variance et N représentent les moyennes observées, la variance et le nombre d'observations dans le compartiment rhizosphère (RS) et sol entier (BS Bulk Soil), respectivement.

Nous pouvons rappeler que si les variances entre les deux groupes (rhizosphère et sol entier) ne sont pas différentes, il est usuel de rassembler les données des deux groupes pour estimer la variance commune. Dans ce cas, la statistique du REI correspond à celle de la statistique de Student qui est équivalente à celle du test de nullité du coefficient du modèle d'analyse de la variance à 1 facteur. Plus précisément, en notant Y_{ij} la mesure pour le groupe i (=RS pour la rhizosphère ou =BS pour le sol entier), nous obtenons le modèle suivant :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Equation 3.3 : Modèle linéaire où Y_{ij} représente la mesure estimée du paramètre étudié dans le compartiment i . $\mu + \alpha_i$ est l'espérance de la mesure pour le groupe i . ε_{ij} représente une variable aléatoire résiduelle.

Si l'hypothèse d'égalité des variances entre les groupes est vérifiée, nous pouvons réécrire l'indicateur REI de la façon suivante :

$$REI = \frac{(\alpha_{RS} - \alpha_{BS})}{\sigma \sqrt{\frac{1}{N_{RS}} + \frac{1}{N_{BS}}}} \quad \text{si } variance_{RS} = variance_{BS}$$

Equation 3.4 : Indicateur de l'effet rhizosphère lorsque l'hypothèse d'égalité des variances est vérifiée dans les compartiments rhizosphère (RS) et sol entier (BS Bulk Soil).

Jeu de données 2

Pour cette expérimentation, l'effet rhizosphère doit être ajusté des facteurs expérimentaux qui sont contrôlés dans le plan d'expérience (la diversification des cultures et le travail du sol). Ainsi, l'effet rhizosphère a été calculé grâce à la comparaison des moyennes estimées dans la rhizosphère et le sol entier par un modèle linéaire mixte grâce au package lme4 ([Bates et al. 2015](#)). Le modèle utilisé est présenté dans l'Equation 3.5.

$$Y_{ijklm} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \alpha\beta_{ij} + \alpha\gamma_{ik} + \beta\gamma_{jk} + \alpha\beta\gamma_{ijk} + D_l + \varepsilon_{ijklm}$$

Equation 3.5 : Modèle linéaire mixte où Y_{ijklm} représente l'activité enzymatique calculée dans le compartiment i , le niveau de diversification j , le mode de travail du sol k , la parcelle l et le réplicat m . α , β et γ représentent les coefficients relatifs aux effets fixes (compartiment, diversification des cultures et travail du sol, respectivement) et D_l l'effet aléatoire associé à la parcelle l . μ représente la moyenne du paramètre étudié. ε_{ijklm} représente une variable aléatoire résiduelle.

Les moyennes estimées du paramètre étudié peuvent être décomposées pour chaque facteur testé et permettent de calculer l'effet rhizosphère selon une combinaison linéaire de moyennes estimées pour les différents groupes (Equations 3.6).

$$REI = \alpha_{RS} - \alpha_{BS} \quad (a)$$

$$REI_j = \alpha_{RS}\beta_j - \alpha_{BS}\beta_j \quad (b)$$

$$REI_k = \alpha_{RS}\gamma_k - \alpha_{BS}\gamma_k \quad (c)$$

$$REI_{jk} = \alpha_{RS}\beta_j\gamma_k - \alpha_{BS}\beta_j\gamma_k \quad (d)$$

Equations 3.6 : Indicateurs de l'effet rhizosphère utilisés dans le chapitre 5 pour caractériser (a) la différence entre les deux compartiments rhizosphère (RS) et sol entier (BS), (b) la différence entre les deux compartiments selon la modalité j du facteur β , (c) la modalité k du facteur γ et (d) la combinaison de deux modalités j et k des facteurs β et γ , respectivement. α , $\alpha\beta$ et $\alpha\beta\gamma$ représentent les moyennes estimées par le modèle.

Le modèle de l'équation 3.5 peut être vu comme une généralisation du modèle d'analyse de la variance à 1 facteur proposé pour le **jeu de données 1**. Toutefois, j'ai choisi, pour le **jeu de données 2**, de ne pas normaliser les REI pour faciliter l'interprétation des résultats obtenus. Il est important de noter que la normalisation n'impacte pas les tests de significativité des REI qui tiennent systématiquement compte de la variance intra-groupe.

5.2. Calcul d'une valeur intégrée de l'effet rhizosphère

Un effet rhizosphère « intégré » permettant d'agréger l'ensemble des paramètres étudiés et de synthétiser l'information sur l'effet rhizosphère a également été calculé dans chacun des deux chapitres. Pour cela, une analyse en composantes principales (ACP) sur l'ensemble des variables étudiées a été réalisée grâce au package FactoMineR ([Le et al. 2008](#)). Grâce à la première composante de l'ACP permettant de discriminer les individus des compartiments rhizosphère et sol entier, les coordonnées des variables sur cet axe ont été utilisées pour calculer l'effet rhizosphère « intégré ».

5.3. Tests statistiques de significativité de l'effet rhizosphérique

La différence entre les deux compartiments permet d'interpréter facilement les résultats et de les comparer entre eux : lorsque la valeur des REIs est positive, cela signifie que la mesure effectuée est supérieure dans la rhizosphère et inversement lorsqu'elle est négative. Cependant, il est essentiel de pouvoir tester la significativité des différents REI pour conclure à une « vraie » différence de mesures entre les deux groupes et les modèles linéaires présentent l'avantage de fournir le cadre théorique nécessaire à ces tests de significativité. Nous pouvons noter que la significativité de l'effet rhizosphère intégré est testée de la même façon que les REIs calculés pour un paramètre individuel.

Jeu de données 1

Le test t de Welch correspond à une différence de moyennes observées et permet de tester si les deux moyennes sont égales. S'il n'y a pas de différence entre les deux moyennes, il n'y a pas d'effet rhizosphère car la différence n'est pas significativement différente de 0.

Jeu de données 2

Pour étudier l'effet du compartiment, du niveau de diversification et du travail du sol sur les mesures effectuées dans le chapitre 5, le package `emmeans` ([Lenth et al. 2018](#)) a été utilisé pour comparer deux modalités en réalisant des comparaisons par paires grâce à la méthode des contrastes. Ainsi, la comparaison des moyennes estimées par le modèle pour les compartiments rhizosphère et sol entier permet de vérifier la significativité de l'effet rhizosphère par rapport à 0.

6. Modélisation par équations structurales à variables latentes

L'approche de modélisation a été développée grâce à des outils de modélisation par équations structurales car ils sont adaptés pour identifier des hypothèses causales dans une approche holistique de l'étude d'un système en écologie. La modélisation par équations structurales consiste à confronter des données observées à une structure causale définie sur la base de connaissances théoriques sur le système d'étude.

6.1. Définitions

La modélisation par équations structurales à variables latentes est un outil d'analyse multivarié qui permet de représenter les relations causales potentielles entre variables latentes (VLs), concepts non directement mesurés permettant de représenter les différents attributs ou composantes du système d'étude grâce à un modèle statistique ([Bollen and Noble 2011](#)). L'ensemble des relations entre les VLs représente la structure causale (ou modèle structural) d'un modèle à équations structurales (Structural equations model ; SEM). Chaque VL est associée à une ou plusieurs variables manifestes (VMs) qui permettent de renseigner le concept non mesuré. Ces VMs constituent les variables observées lors de l'expérimentation menée pour collecter les données. L'ensemble des relations entre les VMs et la VL à laquelle elles sont associées permettent de définir un modèle de mesure. Ainsi, l'utilisation de VLs permet de relier les observations empiriques à des concepts théoriques pour comprendre le fonctionnement du système d'étude d'un point de vue théorique et améliorer sa généralité ([Grace 2006](#)).

Un SEM peut être représenté graphiquement grâce à une visualisation utilisant un graphe acyclique dirigé (Directed Acyclic Graph – DAG ([Shibley 2016](#))). Un DAG est constitué de nœuds qui représentent les différentes variables du système d'étude reliés entre eux par des arrêtes qui indiquent la nature de la relation entre les variables (Figure 3.5). Par convention, les VLs sont représentées graphiquement par des ovales tandis que les VMs par des carrés. Toujours par convention, les flèches unidirectionnelles indiquent le sens d'une relation causale tandis que les doubles flèches indiquent une relation de covariance. Cette représentation graphique permet d'identifier les modèles de

mesures et le modèle structural. Une VL qui dépend d'une autre est appelée variable endogène tandis qu'une VL qui n'est pas influencée par une autre est appelée variable exogène. Cet outil de modélisation statistique permet d'intégrer plusieurs VLs simultanément pour représenter le système d'étude grâce à l'utilisation de VMs pertinentes pour décrire chaque VL.

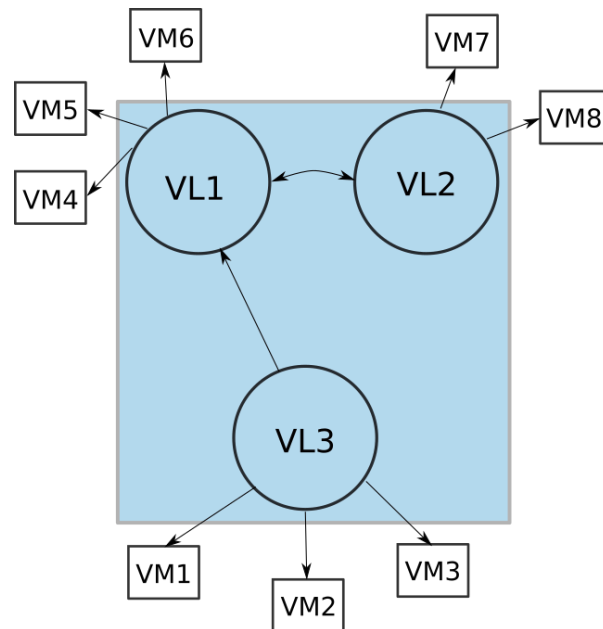


Figure 3.5 : Diagramme acyclique dirigé représentant un modèle d'équations structurales à variables latentes. Trois variables latentes (VL) représentent le modèle structural et sont définies par deux ou trois variables manifestes (VM). Une relation causale est représentée par la flèche orientée de la VL3 vers la VL1, une relation de covariation est représentée par la double flèche entre la VL1 et la VL2 tandis qu'il n'y a pas de relation entre la VL2 et la VL3.

Pour le modèle structural, chaque VL endogène notée η peut être définie grâce à une combinaison linéaire des VL qui la causent (des variables endogènes et/ou exogènes) et une erreur de mesure aléatoire ζ associée à l'estimation partiellement incomplète de la VL. Par soucis d'identifiabilité, les erreurs de mesure sont supposées être centrées (espérance égale à 0) et noncorrélées aux variables exogènes. De plus, il est possible de considérer que deux VLs covarient lorsqu'il n'est pas possible de justifier biologiquement une logique causale dans les variations de ces deux VLs. Ainsi, le modèle structural peut être défini sous la forme matricielle suivante (Equation 3.7) avec l'hypothèse que (I-B) est inversible :

$$\eta = B \eta + \Gamma \xi + \zeta$$

Equation 3.7 : Ecriture matricielle du modèle structural d'un modèle d'équations structurales à variables latentes avec B la matrice des coefficients des VLs endogènes, η le vecteur des VLs endogènes, Γ la matrice des coefficients des VLs exogènes, ξ le vecteur des VLs exogènes et ζ le vecteur des erreurs de mesure des VLs endogènes

Contrairement aux modèles de régression qui ne présentent qu'une seule équation, les SEMs permettent ainsi de représenter un système d'étude par un système d'équations linéaires représentant un réseau de VLs reliées entre elles. Enfin, pour les modèles de mesure, chaque VM est associée à une VL. Les VMs associées aux VLs exogènes ξ sont notées x et les VMs associées aux VLs endogènes η sont notées y . Ainsi, chaque VM peut être définie par une combinaison linéaire d'une VL et d'une erreur de mesure de la VM.

Les erreurs de mesure sont supposées être centrées et non corrélées aux variables exogènes, endogènes et aux erreurs de mesure des VLs. De plus, la covariance entre deux erreurs de mesure des VMs est supposée nulle. Ainsi, le modèle de mesure peut être formulé grâce à une définition générale sous la forme matricielle pour les VMs endogènes y et exogènes x :

$$x = \Lambda_x \xi + \delta$$

$$y = \Lambda_y \eta + \varepsilon$$

Equations 3.8 : *Ecriture matricielle du modèle de mesure d'un modèle d'équations structurales à variables latentes avec Λ_x la matrice de coefficients des VMs exogènes associées aux VLs exogènes et Λ_y la matrice de coefficients des VMs endogènes associées aux VLs endogènes.*

Ainsi, les coefficients de régression associant une VM à sa VL, les coefficients entre VLs et les erreurs de mesure des VLs endogènes et des VMs représentent les paramètres estimés par le modèle.

6.2. Mise en œuvre de la modélisation par équations structurales à variables latentes

L'utilisation de la modélisation par équations structurales implique de réaliser différentes étapes ([Bollen and Noble 2011](#)). La première étape de la modélisation par équations structurales à VLs consiste à construire un modèle théorique grâce à un DAG permettant de visualiser simplement les modèles structural et de mesure. Cette étape de spécification du modèle permet de définir les hypothèses causales du modèle en identifiant :

- le nombre de VLs nécessaire pour décrire le système d'étude,
- les relations entre ces VLs, c'est-à-dire le modèle structural,
- le nombre et le choix des VMs, qui doivent permettre de caractériser la VL tout en étant réalistes d'un point de vue expérimental et,
- l'orientation de la relation entre les VM et leur VL.

Ainsi, le DAG permet de facilement visualiser les relations à spécifier pour l'analyse statistique du SEM correspondant à un système de régressions linéaires composé de VLs et des VMs associées à chaque VL. L'identification du modèle constitue la deuxième étape. Les modèles spécifiés doivent être

identifiables afin de permettre au logiciel d'estimer les différents paramètres du modèle. Pour cela, plusieurs conditions doivent être vérifiées.

- Le nombre de degrés de liberté du modèle correspond à la différence entre le nombre d'éléments de la matrice variance-covariance des VMs et le nombre de paramètres libres estimés par le modèle doit être supérieur ou égal à 0 ([Bollen 1989](#)). Cette condition découle de la méthode choisie pour estimer les paramètres qui est détaillée dans l'étape suivante. Afin de satisfaire cette condition, certains paramètres estimés dans le modèle peuvent être fixés à une valeur et ne seront pas estimés. En effet, dans la modélisation par équations structurales, certains paramètres peuvent être libres (ce qui signifie qu'ils vont être estimés par le modèle), contraints (ce qui signifie qu'ils doivent vérifier une contrainte telle que la positivité par exemple) ou fixés à une valeur précise.
- D'autres conditions nécessaires sont présentées dans la littérature, telle que la règle des « 2+ emitted paths » imposant au moins que deux flèches partent de chaque VL dans le DAG ([Bollen and Davis 2009](#)).
- Enfin, pour qu'un SEM à VL soit identifié, il est nécessaire de dimensionner les VLs en fixant leur variance résiduelle ou un coefficient de régression avec une de ses VMs ([Shipley 2016](#)).

Ensuite, le package lavaan du logiciel R est utilisé afin d'estimer les paramètres du modèle confronté aux données collectées lors des expérimentations ([Rosseel 2012](#)). Nous avons choisi la méthode d'estimation du maximum de vraisemblance qui est la plus courante dans la modélisation par équations structurales à variables latentes ([Shipley 2016](#)). Cette méthode d'estimation repose sur l'analyse des matrices variance-covariance observée et estimée du modèle. La matrice variance-covariance est une matrice symétrique composée des différentes VMs du modèle apparaissant simultanément verticalement et horizontalement et où les diagonales sont les variances de chaque variable et les hors-diagonales sont les covariances entre chaque paire de VMs. La méthode du maximum de vraisemblance estime des paramètres permettant de minimiser la différence entre les matrices variance-covariance observée et estimée par le modèle ([Bollen and Noble 2011](#)). Plusieurs hypothèses doivent cependant être vérifiées avant d'utiliser cette méthode, telle que l'indépendance des observations et la multinormalité des données. L'indépendance des observations est supposée être vérifiée grâce au design expérimental permettant de distinguer chaque unité expérimentale indépendamment l'une de l'autre. L'hypothèse de multinormalité des données a été testée grâce au test de Henze-Zirkler appliqué aux données grâce au package MVN sous R ([Korkmaz et al. 2014](#)). La quatrième étape consiste à évaluer le modèle en testant l'ajustement du modèle aux données grâce à la méthode d'estimation du maximum de vraisemblance qui permet de calculer la statistique de test du χ^2 ([Grace 2006](#)). Sous l'hypothèse nulle d'égalité des matrices variance-covariance estimée et

observée, la statistique de test suit une distribution du χ^2 . On dit qu'un modèle est ajusté aux données observées lorsque l'hypothèse nulle n'est pas rejetée et que la P valeur du test est supérieure à 0,05. Cela signifie que les matrices de variance-covariance observées et estimées ne sont pas significativement différentes et donc que le modèle testé n'est pas rejeté par les données. La confrontation du modèle aux données observées permet donc d'observer la vraisemblance du modèle, c'est-à-dire son adéquation avec des données empiriques, mais ne permet pas de tester la validité des relations causales définies a priori. Ainsi, cette étape permet d'identifier la pertinence de la structure causale du modèle proposé. Lorsque plusieurs modèles sont testés et n'ont pas été rejetés par les données lors de l'étape d'évaluation des modèles, une dernière étape consiste à comparer les différents modèles entre eux grâce à des critères d'information tels que le critère d'information d'Akaike afin de déterminer celui qui est le plus vraisemblable ([Bozdogan 2000](#), [Addicott et al. 2022](#)). Lorsque le modèle est rejeté par les données (P valeur < 0,05), cela signifie que la structure causale proposée a priori ne permet pas de représenter le jeu de données. Il est alors possible de modifier le modèle testé lors d'une étape de respecification du modèle qui consiste à simplifier ou complexifier le modèle testé. Les indices de modification proposés dans le package lavaan permettent d'identifier des relations à ajouter afin d'améliorer l'ajustement du modèle aux données ([Rosseel 2012](#)). Dans une approche parcimonieuse de modélisation, il est cependant préférable de limiter les variables du jeu de données ou de supprimer des relations du modèle. Les indices de modification ne seront pas utilisés dans les études qui suivent.

6.3. Application à un système d'étude sol-plante

L'influence des interactions sol-plante sur la performance du blé a été étudiée grâce à la modélisation par équations structurales à variables latentes appliquée à des données expérimentales collectées au cours de la thèse. Ainsi, un système d'étude sol-plante, composé d'un individu de blé et du sol rhizosphérique autour de ses racines a été modélisé. Ce système d'étude est constitué de trois compartiments : la rhizosphère, le système racinaire et les parties aériennes du blé. A ma connaissance, l'identification d'hypothèses causales entre les propriétés de la rhizosphère et les traits racinaires et aériens du blé n'ont jamais été étudiées de façon intégrée en prenant en compte ces différents compartiments. Chaque compartiment est défini par une ou plusieurs VLs dans les chapitres 6 et 7. Les moyens humains, financiers et les contraintes expérimentales nous ont imposé des choix qui se répercutent sur le nombre de variables mesurées. Pour notre cas d'étude, nous avons considéré des modèles de mesure réfléchitifs, c'est-à-dire que les VMs sont influencées par la VL. En d'autres termes, la VL est la cause de la mesure observée sur la VM. En effet, pour caractériser le fonctionnement de chaque composante du système d'étude, nous avons considéré que les différents paramètres observés sont le reflet de chaque VL à laquelle il est attribué.

La complexité des systèmes en écologie nécessite de formuler plusieurs hypothèses sur la structure causale car une structure unique ne peut pas être identifiée *a priori* ([Eisenhauer et al. 2015](#)). Ainsi, l'utilisation des outils de modélisation par équations structurales dans une approche confirmatoire, c'est-à-dire en validant la structure causale à partir de l'ajustement d'un modèle théorique aux données, n'est pas adaptée à notre système d'étude car plusieurs structures causales alternatives peuvent exister. Grâce à l'application de la modélisation par équations structurales à variables latentes à notre cas d'étude, un cadre de travail à l'utilisation de ces outils pour identifier des structures causales dans une approche exploratoire a été développé dans le chapitre 6. Ce cadre de travail s'appuie sur une approche de concertation et médiation entre les disciplines de l'écologie et de la modélisation statistique afin de construire des SEMs permettant de représenter le système d'étude. Ce cadre de travail a été utilisé avec le **jeu de données 3** et le **jeu de données 4** afin de tester plusieurs hypothèses pour modéliser des relations causales entre VLs et tenter de mieux comprendre la contribution de la rhizosphère à la performance des plantes. Enfin, cette approche de modélisation statistique a été réalisée en conditions contrôlées et en conditions d'expérimentation sur une parcelle d'étude, afin de tester la reproductibilité des relations entre la rhizosphère et les performances des plantes. En effet, une analyse multi-échelle a été réalisée dans le chapitre 7 pour comparer les résultats des différents modèles structuraux confrontés aux données collectées lors des deux expérimentations.

7. Références

- Addicott, E. T., E. P. Fenichel, M. A. Bradford, M. L. Pinsky, and S. A. Wood. 2022. Toward an improved understanding of causation in the ecological sciences. *Frontiers in ecology and Environment* **20**:474-480. <https://doi.org/10.1002/fee.2530>
- Bates, D., M. Mächler, B. Bolker, and S. Walker. 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software* **67**:1 - 48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Bollen, K. A. 1989. Structural Equation Models with Observed Variables. Pages 80-150 *Structural Equations with Latent Variables*. <https://doi.org/10.1002/9781118619179.ch4>
- Bollen, K. A., and W. R. Davis. 2009. Two Rules of Identification for Structural Equation Models. *Structural Equation Modeling: A Multidisciplinary Journal* **16**:523-536. <https://doi.org/10.1080/10705510903008261>
- Bollen, K. A., and M. D. Noble. 2011. Structural equation models and the quantification of behavior. *PNAS* **108**:15639-15646. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010661108>
- Bozdogan, H. 2000. Akaike's information criterion and recent developments in information complexity. *Journal of Mathematical Psychology* **44**:62-91. <https://doi.org/10.1006/jmps.1999.1277>
- Eisenhauer, N., M. A. Bowker, J. B. Grace, and J. R. Powell. 2015. From patterns to causal understanding: Structural equation modeling (SEM) in soil ecology. *Pedobiologia* **58**:65-72. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2015.03.002>
- Grace, J. B. 2006. *Structural Equation Modeling and Natural Systems*. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511617799>
- Korkmaz, S., D. Goksuluk, and G. Zararsiz. 2014. MVN: An R Package for Assessing Multivariate Normality. *The R Journal* **6**:151-162. <https://doi.org/10.32614/RJ-2014-031>
- Lancashire, P. D., H. Bleiholder, T. Vandenboom, P. Langeluddeke, R. Stauss, E. Weber, and A. Witzemberger. 1991. A uniform decimal code for growth-stages of crops and weeds. *Annals of Applied Biology* **119**:561-601. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1991.tb04895.x>
- Le, S., J. Josse, and F. Husson. 2008. FactoMineR: An R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software* **25**:1-18. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>
- Lenth, R., H. Singmann, J. Love, P. Buerkner, and M. J. R. Herve. 2018. Emmeans: Estimated marginal means, aka least-squares means. Available at: <https://github.com/rvleth/emmeans>.
- Lobet, G., L. Pagès, and X. Draye. 2011. A Novel Image-Analysis Toolbox Enabling Quantitative Analysis of Root System Architecture *Plant Physiology* **157**:29-39. <https://doi.org/10.1104/pp.111.179895>
- R Development Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. Pages Retrieved from <http://www.R-project.org>. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. .
- Rosseeil, Y. 2012. lavaan: An R Package for Structural Equation Modeling. *Journal of Statistical Software* **48**:1 - 36. <https://doi.org/10.18637/jss.v048.i02>
- Shipley, B. 2016. *Cause and correlation in biology: a user's guide to path analysis, structural equations and causal inference with R*. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139979573>
- Tiemann, L. K., A. S. Grandy, E. E. Atkinson, E. Marin-Spiotta, and M. D. McDaniel. 2015. Crop rotational diversity enhances belowground communities and functions in an agroecosystem. *Ecology Letters* **18**:761-771. <https://doi.org/10.1111/ele.12453>
- Welch, B. L. 1947. The generalization of "Student's" problem when several different population variances are involved. *Biometrika* **34**:28-35. <https://doi.org/10.1093/biomet/34.1-2.28> %J Biometrika
- Zimmerman, D., and B. Zumbo. 1993. Rank transformations and power of the Student t test and Welch t test for nonnormal populations with unequal variances. *Canadian Journal of Experimental Psychology/Revue canadienne de psychologie expérimentale* **47**:523-539. <https://doi.org/10.1037/h0078850>

Matériel et méthodes

Chapitre 4

Analyse prospective de l'effet rhizosphère
sur des parcelles agricoles du Grand-Ouest

Ce chapitre correspond à un article **publié** dans la revue *Plant & Soil*.

Mira, S., Emily, M., Mougél, C., Oury M., and Le Cadre E. (2022). A field indicator for rhizosphere effect monitoring in arable soils. Plant Soil 478, 325–346. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-05284-2>

Ces résultats ont également été présentés au congrès :

- Rhizosphere 5 (Saskatoon, Canada 2018 : « An indicator to study the rhizosphere effect in agroecosystems » communication orale) et
- de la Société française d'écologie (Rennes 2018 : « Crop diversification positively alter the intensity of soil-plant interactions in intensive agrosystems giving clues for agroecological transition » communication orale).

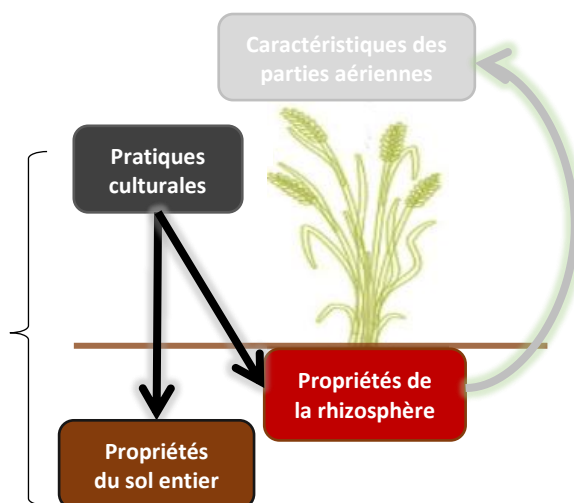
Dans cet article, j'ai développé un design expérimental permettant de réaliser une analyse prospective de l'effet rhizosphère sur trois parcelles agricoles en contexte de polyculture-élevage intensif. Ces parcelles ont été discriminées selon un gradient de diversification des cultures et l'effet rhizosphère a été étudié grâce à plusieurs paramètres des sols tout au long du cycle de culture du blé. Dans le cadre de la thèse, ce chapitre m'a permis de caractériser l'effet rhizosphère pour plusieurs paramètres des sols sur des parcelles agricoles au cours du cycle de culture du blé tendre (*Triticum aestivum*) cultivé en contexte de polyculture-élevage intensif. De plus, j'ai évalué l'influence du niveau de diversification des cultures établi grâce à un indicateur de diversification sur l'effet rhizosphère. Les observations du **jeu de données 1** sont utilisées dans ce chapitre.

Sous-question de recherche 1

La plante modifie-t-elle les propriétés du sol dans la rhizosphère induisant un fonctionnement différent du sol non adjacent aux racines et ce, quelles que soient les pratiques agricoles ?

Jeu de données 1

→ Hypothèses 1 & 2



Keywords

rhizosphere; microbiota; holobiont; plant diversity; intercropping

Abstract

Purpose. For the agroecological transition, the rhizosphere is a critical interface for plants to acquire resources and to enhance plant health with limited inputs. In the present study, we developed a new indicator to estimate and monitor the intensity of plant-soil-microbiota interactions under field conditions.

Methods. A Rhizosphere Effect Indicator (REI) was calculated by comparing individual and aggregated variables of bulk soil to those of the rhizosphere (i.e. soil enzyme activities and nutrient fluxes) every 2 weeks in the fields of three farms along a crop-diversification gradient. The diversity and structure of microbial communities in bulk soil and the rhizosphere in each field were assessed at flowering.

Results. The REI revealed statistically distinct dynamics and intensities of rhizosphere functioning among the three farms. Soil enzyme activities contributed more to the rhizosphere effect than nitrate and phosphate fluxes. Molecular analysis distinguished the two soil compartments and all crop-diversification levels. An integrated REI that provided a single value monitored the rhizosphere effect reliably.

Conclusion. Methodological limits due to sampling of the rhizosphere under field conditions must be overcome to develop the REI, but the REI can serve as a complementary tool to traditional soil analysis for agroecological cropping system design and evaluation.

1. Introduction

New insights from the literature point strongly to the role of plant microbiota ([Berendsen et al. 2012](#)) in extending the plant genome for the agroecological transition. In particular, a large body of literature demonstrates that plants recruit microorganisms that later colonize their root tissues ([Bais et al. 2006](#), [Haichar et al. 2014](#)), thus constituting a specific plant-associated microbiota in the rhizosphere (*i.e.* the volume of soil influenced by root activities) compared to the bulk soil ([Bakker et al. 2013](#), [Mitter et al. 2016](#)). Consequently, plant performances are enhanced through modifications of ecological functions fulfilled by the rhizosphere and endophytic root microbiota. For instance, these microorganisms can help suppress diseases ([Peralta et al. 2018](#)), enhance nutrient mineralization and delivery ([Coskun et al. 2017](#), [Huo et al. 2017](#)) and promote plant growth ([Richardson et al. 2009](#)).

The rhizosphere represents less than 2-3% of the soil volume ([Coleman et al. 1978](#), [Dighton 2014](#)) but is of major importance ([Lynch 1994](#), [Hinsinger 1998](#), [Hinsinger et al. 2009](#), [Richardson et al. 2009](#)). Roots liberate organic and inorganic compounds within the rhizosphere through rhizodeposition processes that alter the physical and chemical status of the soil ([Morel et al. 1991](#), [Badri and Vivanco 2009](#), [Nguyen 2009](#), [Dennis et al. 2010](#), [Blossfeld et al. 2013](#), [Carminati and Vetterlein 2013](#), [Huo et al. 2017](#)). In soil media with few readily available carbon sources, root exudates promote microbial abundance and activities near roots ([Kuzyakov and Blagodatskaya 2015](#)). Taken together, the modification of soil biological, chemical and physical properties by plant roots (*i.e.* the “rhizosphere effect”) contributes to plant nutrition and health ([Kennedy and de Luna 2005](#)). The rhizosphere effect, however, is difficult to detect during the cropping season under field conditions ([Mitter et al. 2016](#), [van der Putten et al. 2016](#)). Besides soil type, the rhizosphere effect also depends on the ecotype, plant species and genotype, and plant physiological status, all of which influence the structure and activities of the microbial communities harbored in the rhizosphere through the diversity and nature of root exudates ([Rovira 1969](#), [Garbeva et al. 2008](#), [Hunter et al. 2014](#), [Reinhold-Hurek et al. 2015](#), [Alegria Terrazas et al. 2020](#)). At the same time, general soil properties such as pH, texture, the quantity and quality of soil organic matter and cation exchange capacity shape the initial microbial inoculum in which plants constitute their rhizosphere microbiota ([Fierer and Jackson 2006](#)). Recently, the rhizosphere effect was also examined for its influence on plant-soil feedback that influences the potential co-existence of plant species, which in turn determines the diversity, structure and succession of plant communities ([Berg and Smalla 2009](#)). By modifying physicochemical conditions, the rhizosphere effect progressively acts as a filter for soil microbiota that persist after the associated plants have disappeared ([Kong et al. 2019](#)). In agroecosystems, the plant-soil feedback has been exploited to identify crop rotations that provide optimal conditions for plant growth and reduce farm inputs. However, negative plant-soil feedback occurs more frequently under conventional practices

than under organic practices. According to [van der Putten et al. \(2016\)](#), management practices and the legacy of past land use could interfere with the agroecological transition from conventional practices. Faced with societal pressure and environmental concerns, agriculture must embrace another “Green Revolution” based on biodiversity ([Renard and Tilman 2019](#)). Promoting crop diversity is considered as one of the most important options that can support the ecological cycles that replace synthetic fertilizers and pesticides ([Cardinale et al. 2002](#), [Duru et al. 2015](#), [Isbell et al. 2017](#)). Although diversifying crops is an appealing option for designing agroecological systems, too little is known about the associated rhizosphere functioning to identify the crop-diversification patterns that enhance positive plant-soil feedback the most through the rhizosphere effect ([Mariotte et al. 2018](#)) or to identify crop management that does not hinder recruitment of beneficial microbes by crops. Despite the importance of the rhizosphere effect, a major limitation to determining this effect under field conditions is the collection of representative rhizosphere samples ([Badalucco and Nannipieri 2007](#), [Barillot et al. 2013](#)). As a substitute, many rhizosphere-related studies have used specific devices, such as rhizoboxes ([Shi et al. 2011](#)), pot experiments ([Castro and Whalen 2016](#)) or experiments at specific plant stages. However, the rhizosphere literature provides a complete toolbox ([Neumann et al. 2009](#)) that is frequently updated by new methodological developments for *in situ* visualization of biological variables ([Spohn et al. 2013](#), [Kuz'yakov and Razavi 2019](#)), chemical variables ([Blossfeld et al. 2013](#), [Kreuzeder et al. 2018](#)) and species composition ([van Elsas and Boersma 2011](#)) of the rhizosphere. Despite increasing knowledge about rhizosphere functioning via physicochemical and biological variables, the rhizosphere effect has yet to be estimated with an indicator, despite pioneering studies of ([Mukhopadhyay et al. 2016](#), [Qu et al. 2020](#)), thus limiting the transfer of knowledge about the rhizosphere to practitioners. In particular, modern agroecosystems in developed countries require systemic changes to address environmental, societal and climatic issues. Redesigning these systems into more agroecological systems requires more than a set of practices (e.g. rotations, minimum tillage, cover cropping); it requires applying agroecological principles, such as the ability of plants to adapt to their environment ([Hinsinger et al. 2003](#), [Bakker et al. 2012](#), [Berendsen et al. 2012](#), [Chaparro et al. 2012](#)), in order to avoid using synthetic fertilizers or pesticides. Uncertainty about the influence of practices in agroecological systems due to interactions among system components (e.g. soil, plants) and dependence on local abiotic and biotic conditions are constraints for farmers. According to [Toffolini et al. \(2016\)](#), redesign requires providing information to farmers about the desired direction (*i.e.* long-term issue) and feedback to confirm the validity of a new set of technical practices for local conditions, even if results are not yet measurable. Consequently, agronomists, as well as plant breeders who work with rhizosphere microbiota as a selection unit ([Gopal and Gupta 2016](#)), need a rhizosphere indicator as a tool to guide the agroecological transition. An indicator is defined as a

variable that supplies information about other variables that are difficult to access, which is particularly relevant for rhizosphere complexity.

Our aim was to assess the rhizosphere effect in conventional cropping systems located in a territory specialized in cow milk production. It is crucial for this and similar territories to replace large amounts of synthetic inputs with ecological processes that are allowed by rhizosphere interactions in order to decrease air and stream pollution. Thus, we built a Rhizosphere Effect Indicator (REI) based on bulk soil and the rhizosphere on farms with three crop-diversification levels, determined by an index adapted from [Tiemann et al. \(2015\)](#). We hypothesized that the REI (i) can determine a rhizosphere effect over the entire plant cycle on farm fields and (ii) reflects a gradient of crop diversification. Our study was conducted on fields of winter wheat (*Triticum aestivum*) in Brittany, France. As a first step in calculating the REI, bulk soil and rhizosphere variables were monitored every two weeks from the elongation stage until ripening ([Lancashire et al. 1991](#)). In a second step, enzyme activities, as proxies of microbial activities, along with nitrate and phosphate fluxes in the bulk soil and rhizosphere were determined to build the REI. In agreement with [Breitkreuz et al. \(2020\)](#), the flowering stage was chosen to estimate the maximum effect of root exudation on soil microbial diversity. Consequently, we assessed bacterial and fungal diversities in bulk soil and the rhizosphere during this stage to examine the advantages and disadvantages of an REI based on molecular analysis to the REI based on enzyme activities and nutrient fluxes.

2. Materials and methods

2.1. Study sites and experimental design

All fields, which had similar soil properties, were located south of Rennes, in northwestern France, which has an oceanic climate (Online resource 1). When available, information about agricultural practices of typical conventional cropping systems were collected (Table 4.1). A crop-diversification index was calculated according to [Tiemann et al. \(2015\)](#) for each field by multiplying the number of species in the rotation by the mean number of species grown per year over a five-year period (i.e. the longest rotation). This index integrated the temporal and spatial diversity of crops grown in the field. Accordingly, the three study sites were identified as having a “High” (47°44'42.2"N, 1°17'52.6"W), “Moderate” (48°01'57.6"N, 2°01'24.7"W) or “Low” diversification level (47°48'45.4"N, 1°41'05.3"W). All synthetic fertilizers were applied before the beginning of the experiment, except for the Low level, for which 75 kg N ha⁻¹ was applied at t₂ (i.e. heading). In a preliminary experiment, soil properties were determined to characterize spatial variability of soil properties. Consequently, a 70 m² subplot was defined and considered to represent the entire field. In this 70 m² subplot, soil properties were determined after collecting a composite soil sample at 0-30 and 30-60 cm depths according to standard

Chapitre 4

protocols of the INRAE soil analysis platform (Table 4.2). Finally, in this 70 m² subplot, a 8 m² hand-weeding zone was defined to remove the influence of roots. Soil samples collected in this zone were defined as bulk soil. The remaining 62 m² was used to collect rhizosphere samples from soil that adhered to plant roots.

Table 4.1 : Geographic position and agricultural practices performed by the farmers on the three sites.

Crop diversification level	High	Moderate	Low
Crop-diversification index	9.8	7.2	4
GPS Coordinates	47°44'42.2"N 1°17'52.6"W	48°01'57.6"N 2°01'24.7"W	47°48'45.4"N 1°41'05.3"W
Rotation	Maize - wheat - rape seed + faba bean - cover crop - wheat	Cover crop - maize - barley - rape seed + red clover - faba bean - wheat	Maize - cover crop - wheat
Cover crop	Faba beans, phacelia, Egyptian clover, oat	Red clover	Italian Ray Grass, Crimson clover
Tillage	Direct seeding	Minimum tillage	Minimum tillage
Wheat variety	Arezo & Cellule	Fructidor	Absalon
Row spacing	16.7	Seed broadcasting	15
Sowing density (grains m ⁻²)	260	350	250
Yield (t ha ⁻¹)	7	6,5	9
N fertilization (kg ha ⁻¹)	136	210	165
P fertilization (kg ha ⁻¹)	22	-	-

A crop-diversification index was calculated from Tiemann et al. (2015) for each field by multiplying the total number of species cultivated during the rotation by the average number of species cultivated over a five-year period (corresponding to the duration of the longest rotation).

Chapitre 4

Table 4.2 : Soil physicochemical characteristics measured on the sub plots within fields at two depths (0-30 cm and 30-60 cm).

Crop-diversification level	High		Moderate		Low	
	0-30	30-60	0-30	30-60	0-30	30-60
Clay (g kg ⁻¹)	163	173	168	168	165	155
Fine silt (g kg ⁻¹)	284	269	275	282	305	291
Coarse silt (g kg ⁻¹)	309	298	409	411	286	252
Fine sand (g kg ⁻¹)	126	117	113	98	121	126
Coarse sand (g kg ⁻¹)	118	143	35	41	123	176
Total C (g kg ⁻¹)	18.2	7.84	15.2	6.96	15.2	6.95
Total N (g kg ⁻¹)	1.81	0.81	1.46	0.7	1.54	0.81
P _{olsen} (g kg ⁻¹)	0.054	0.03	0.078	0.034	0.056	0.019
Total CaCO ₃ (g kg ⁻¹)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Organic matter (g kg ⁻¹)	31.5	13.6	26.2	12	26.2	12
C/N ratio	10.1	9.68	10.4	9.94	9.84	8.58
pH _{H2O}	6.47	6.38	6.82	6.51	6.35	6.78
CEC _{Metson} (cmol ⁺ kg ⁻¹)	7.51	5.67	8.08	6.49	7.78	4.65
CEC _{Cobaltihexamine} (cmol ⁺ kg ⁻¹)	7.33	4.81	7.84	5.88	7.47	4.92

2.2. Soil sampling

Every two weeks from elongation to senescence (t_1 to t_5 , respectively), one soil block 25 cm × 25 cm × 12 cm was randomly selected in each 8 and 62 m² zones and identified by a marker flag to collect soil samples (i.e. four replicates per date per zone, Online resource 2). For bulk soil, an auger (15 cm in depth, 5 cm in diameter) was used to collect a soil sample from a depth of 2-12 cm, while rhizosphere samples were obtained from the same depth after all plants in the soil blocks had been collected. In the field, soil blocks that contained plants were shaken vigorously immediately after extraction to remove loose soil and then placed in a hand-held cooler (4°C) for transport to the laboratory, taking care to avoid contact with ice packs. In the field, tools were rinsed with ethanol and air-dried between each replicate. In the laboratory, plants were shaken again to collect adhering soils in clean containers. Roots that remained in the soil were hand-sorted into containers, and bulk soil and rhizosphere samples were analyzed within 2 days for enzyme activities, or stored at 4°C until further analysis. On each sampling date, particular attention was paid to staying on footpaths to avoid compaction effects due to trampling. In total, there were four biological replicates per soil compartment (bulk soil and rhizosphere), per sampling date (t_1 to t_5) and per crop-diversification level (High, Moderate, Low).

2.2.1. Soil enzyme activities

Soil enzyme activities (extracellular and intracellular enzymes) in fresh soils were measured at the Biochem Env platform (INRAE, Versailles, France, <http://www.biochemenv.fr/>), within 48 h of field collection. Four enzymes, which correspond to key processes of soil organic matter turnover that influence plant nutrition, were measured in each soil compartment: acid (PAC) and alkaline (PAK) phosphatases, β -glucosidase (GLU) and arylamidase (ARA). For each biological replicate, three technical replicates were created by weighing three 4 g subsamples of sieved soil and mixing each one with 25 mL of water. Soil samples were distributed into 96-well microplates and incubated at 37°C with a specific substrate depending on the enzyme tested: 0.05 M 4-nitrophenylphosphate for 30 min for PAC or PAK, 0.05 M 4-nitrophenyl β -D-glucopyranoside for 1h for GLU and 0.008 M of L-leucine b-naphtylamide for 2h for ARA. For PAC, PAK and GLU, the reaction was stopped with 0.5 M CaCl₂ and 0.1 M Tris at pH 12. For ARA, the reaction was stopped with pure ethanol, and the b-Naphtylamine formed was colored with 0.0035 M of DMCA (p-dimethylaminocinnamaldehyde). After reactions, each plate was centrifuged for 5 min at 2,000 g, and absorbance was measured on a microplate reader (Genius SAFAS). The amounts of p-nitrophenol and b-Naphtylamine formed were estimated by absorbance at 405 nm and 540 nm, respectively. Enzyme activities were calculated as the amount of product formed per unit of time (mU g^{-1} of dried soil = $\text{nM min}^{-1} \text{g}^{-1}$ of dried soil).

2.2.2. Soil molecular analysis

At the flowering stage (t_2 for the High and Low crop-diversification levels, t_3 for the Moderate level), soil microbial diversity was measured in each soil compartment for each crop-diversification level. After harvest, soil samples were immediately frozen at -20°C until processing. Soil DNA was extracted according to a standardized protocol (Ourry et al. 2018), with the following modifications. First, DNA was extracted from 250 mg of fresh bulk soil and rhizosphere samples placed in 2 mL tubes containing 0.6 mL of 0.5 mm ZR BashingBead™ lysis matrix with 1 mL lysis buffer containing 100 mM Tris-HCl (pH 8), 100 mM EDTA (pH 8), 100 mM NaCl, 2% SDS and ultra-pure water. Second, during deproteinization, 800 μL of supernatant was incubated with 1/10 volume of 3 M potassium acetate (pH 5.5). Third, after precipitation, 750 μL of isopropanol was added to the supernatant. Fourth, at the end of the extraction, DNA pellets were suspended in 100 μL ultra-pure water without homogenization and stored at 4°C. DNA was purified of residual impurities such as humic acids using Micro Bio-Spin (Biorad, Hercules, California, USA) columns of PVPP (PolyVinyl PolyPirrolidone, Sigma-Aldrich). DNA in these columns was purified by centrifuging it for 4 min at 1,000 g at 10°C. The DNA eluate was collected for the second purification using the GeneClean® Turbo kit (MP Biomedicals). DNA was quantified using a Quantus fluorometer (Promega, Madison, Wisconsin, USA) and the QuantiFluor® kit (dsDNA: E2670) to obtain

samples that contained 2.5 ng/ μ L of DNA. PCR amplification and metabarcoding sequencing were performed at the Genoscreen platform (Lille, France) using Illumina MiSeq to a 2 \times 250 base-paired-end version. PCR primer pairs 799F (5' -AACMGGATTAGATACCKG-3') and 1223R (5' -CCATTGTAGTACGTGTGTA-3'), and NS22B (5'-AATTAAGCAGACAAATCACT-3') and SSU0817 (5'-TTAGCATGGAATAATRRAATAGGA-3') were used to amplify 16S and 18S rDNA genes, respectively ([Le Van et al. 2017](#)). Raw data sets were deposited in the European Nucleotide Archive database system under the project number PRJEB49055. Accession numbers of both bulk and rhizosphere soil samples range from ERR7439044 to ERR7439091.

2.2.3. *Determining nutrient fluxes in bulk soil and the rhizosphere with anion-exchange membranes*

Anion-exchange membranes were used to quantify nitrate (N-NO₃⁻) and phosphate (P-PO₄³⁻) fluxes (μ g day⁻¹) to characterize nutrient dynamics over the crop cycle ([Ziadi et al. 2006](#), [Le Cadre et al. 2018](#)). Anion-exchange membranes from AMV Selemion™ (Asahi Glass Co., Japan) were conditioned in raw sheets of 112 cm \times 112 cm. Membranes were cut into 2 cm \times 6 cm strips (i.e. a total exchange area of 24 cm²) and kept moist at all times with ultra-pure water. Before being installed in the field, the membranes were charged by mechanically shaking them with 20 mL of 0.5 M KCl for 10 min, repeated three times. Conditioned membranes were stored in plastic bags containing 0.5 M KCl to prevent drying and placed in a cooler until being installed in the field. Membranes were placed at a depth of 2-8 cm, either at the center of each square in the bulk soil zone or as close as possible to roots in the rhizosphere zone. In both zones, membranes were buried into the soil at a 45° angle using a knife as a guide to help insert the membrane into the soil. After making a hole in each membrane with a needle, the membranes were attached to a marker flag (> 1 m tall, to locate them easily during later wheat-development stages) with a fishing line so they could be retrieved easily after soil incubation ([Shaw and DeForest 2013](#)). After inserting each membrane, the soil was pressed, and 250 mL of ultra-pure water was added from above to provide good soil contact according to [Qian and Schoenau \(2002\)](#). Membranes were left *in situ* to capture anions in the soil solution. After 5-7 days of incubation in soils, and on the same day as plant and soil sampling, each membrane was carefully harvested by locating its marker flag, cutting the fishing line between it and the membrane, and then pulling the membrane out of the soil. Membranes were then cleaned with a toothbrush to remove adhering soil and stored in Falcon tubes containing 20 mL of 0.5 M KCl in a cooler. In the laboratory, membranes were stored for one night at 4°C before elution. The solution in each Falcon tube was filtered at 0.45 μ m to remove suspended soil particles and transferred into a new tube. Next, 20 mL of 0.5 M KCl was added to the Falcon tube containing each membrane, shaken mechanically for 10 min and filtered as described previously. This process was repeated twice, and a final volume of 60 mL of solution was analyzed. Nitrate and phosphate concentrations in eluates were measured by spectrophotometry with an

automatized discrete analyzer (AQ2, Seal Analytical Ltd., UK), according to ISO 11905-1 and ISO 6878 methods for nitrates and phosphates, respectively. Nitrate and phosphate absorbance was measured at 520 and 880 nm, respectively. Samples were stored at 4°C for one month before measuring nitrate and phosphate concentrations. Comparing nitrate and phosphate concentrations in the same samples measured directly after elution to those measured one month after elution indicated that storage did not influence the concentrations. Nitrate and phosphate fluxes were calculated as the total amount of ions eluted in the solution divided by the incubation duration of the membranes in soils (5-7 days). We did not measure pH since its influence was already integrated into measurements of enzyme activities ([Burns et al. 2013](#)) and nutrient fluxes ([Hinsinger 2001](#), [Moreau et al. 2019](#)).

2.3. Statistical analyses

All statistical analyses were performed with R software ([R Development Core Team 2020](#)), version 4.0.0.

2.3.1. Bioinformatical and statistical analyses of the microbial datasets

Paired-end fastq files were processed using the “dada2” package to obtain amplicon sequence variants (ASVs) that could identify fine-scale differences between samples ([Callahan et al. 2016](#), [Ourry et al. 2020](#)). To manage base mismatches between reads 1 and 2, quality profiles were analyzed, and reads were trimmed at Q30 to remove low-quality bases while maintaining sufficient overlap between the two reads. The subsequent steps were performed as defined in the workflow (*i.e.* learning the error rates, dereplication, sample inference, read merging and chimera-suppression steps). Sequences were affiliated to taxa using the SILVA reference database, version 132 for bacteria and archaea and version 128 for fungi.

The “phyloseq” package ([McMurdie and Holmes 2013](#)) was used to manipulate the data and to obtain relative abundances of ASVs using rarefaction (with a threshold of 15,000 reads for bacteria and 10,000 reads for fungi), transformation into per mille proportions, filtering at 1/1000 and log transformation ([Ourry et al. 2020](#)).

Alpha diversity was analyzed using rarefied and proportion-expressed data and calculating the number of ASVs observed (*i.e.* richness) and the Shannon (*i.e.* diversity) and Pielou (*i.e.* evenness) indices. Alpha diversity indices of fungi were square-root transformed, and then all alpha diversity indices were tested against the crop-diversification level, soil compartment and their interaction using a linear model. When model residues were normal and homoscedastic, the significance of each term of the linear model was determined by an F-test using Type II analysis of variance (“Anova” function of the “car” package; Weisberg and Fox 2011). Marginal means were estimated, and a Tukey test was applied

to perform pairwise comparisons using the “CLD” function of the “emmeans” package ([Lenth et al. 2018](#)). P-values were corrected with false-discovery-rate (FDR) correction (“p.adjust” function). Plotting required the “ggplot” function of the “ggplot2” package ([Wickham 2016](#)). Beta diversity (i.e. community structure) was analyzed using rarefied, proportion-expressed, filtered and log-transformed data. Data were then transformed into a distance matrix using the Bray-Curtis dissimilarity index, and distance-based redundancy analysis (db-RDA, “dbrda” function from the “vegan” package; Oksanen et al. 2019) was applied using the crop-diversification level, soil compartment and their interaction ([Ourry et al. 2020](#)). The “RVAideMemoire” package ([Hervé 2016](#)) was used to perform a Type II permutation F-Test for constrained multivariate analysis, test the significance of each term in the model (“MVA.anova” function), perform pairwise comparisons when a factor was significant, assess differences between categories of the factor (“pairwise.factorfit” function) and plot the data (“MVA.plot” function). All P-values were FDR-corrected.

Raw data sets were deposited in the European Nucleotide Archive database system under the project number PRJEB49055. Accession numbers of both bulk and rhizosphere soil samples range from ERR7439044 to ERR7439091.

2.3.2. Rhizosphere Effect Indicator calculation

To study the rhizosphere effect independently for each soil variable, the REI was calculated to compare bulk soil and rhizosphere soils (Equation 4.1) and thus characterize the rhizosphere effect:

$$REI = \frac{mean_{RS} - mean_{BS}}{\sqrt{\frac{variance_{RS}}{N_{RS}} + \frac{variance_{BS}}{N_{BS}}}}$$

Equation 4.1 : Rhizosphere Effect Indicator (REI) calculated with rhizosphere (RS) and bulk soil (BS) samples.

The REI corresponds to Welch’s t-test to compare means of two samples with unequal variances ([Welch 1947](#), [Zimmerman and Zumbo 1993](#)). On each sampling date and for each crop-diversification level, the rhizosphere indicator and its confidence interval were calculated using the four replicates of each compartment. The indicator normalized differences between bulk soil and the rhizosphere by considering the variability within each compartment. We also used Welch’s t-test to calculate a P-value, which tested the nullity of the REI indicator, thus testing the null hypothesis of the absence of a rhizosphere effect. The REI indicator was used to represent dynamics of the rhizosphere effect over the cropping cycle (five sampling dates) for each crop-diversification level (High, Moderate and Low). Fluxes of nitrate (REI_NO3) and phosphate (REI_PO43) and activities of PAC (REI_PAC), PAK (REI_PAK), GLU (REI_GLU) and ARA (REI_ARA) were used independently to calculate the REI. At flowering, an additional REI indicator was calculated with alpha diversity indices alone because beta diversity indices were not suitable for calculating an REI indicator. To interpret the REI indicators, confidence intervals

that included zero indicated no significant difference between bulk soil and the rhizosphere, which indicated the absence of a rhizosphere effect. Conversely, confidence intervals that excluded zero indicated a significant difference between bulk soil and the rhizosphere, which indicated the presence of a rhizosphere effect. Positive values of an REI indicator indicated higher values of a variable in bulk soil than in the rhizosphere, and vice-versa. On each sampling date, the effect of crop-diversification level on the REI indicator was tested by pairwise comparisons followed by Bonferroni corrections for adjusted P-values ($P < 0.05$) among High, Moderate and Low diversification levels. The P-value of the difference between two crop-diversification levels was calculated according to the Student's t-distribution that the REIs followed. Using the same test, REI values were compared among sampling dates within each crop-diversification level to identify a potential effect of plant-development stage on the REI.

Multivariate analyses were performed using the “FactoMineR” package ([Le et al. 2008](#)). Principal component analysis (PCA) was performed to summarize the six soil variables: nitrate and phosphate fluxes and activities of the four enzymes. The soil compartment (rhizosphere or bulk soil) and the crop-diversification level (High, Moderate or Low) were added to the analysis as supplementary categorical variables. Finally, the coordinates of individuals on the first axis of the PCA were used to calculate an integrated REI that summarized the six soil variables and to provide an overview of the rhizosphere effect over the crop cycle for each crop-diversification level.

3. Results

3.1. *Highlighting the rhizosphere effect with the REIs*

The two first axes of the PCA explained 70% of the total variance, which indicated that the PCA represented the soil variables well (Fig. 4.1). The first axis of the PCA was associated with the crop-diversification level, while the second was associated with the soil compartment; along the second axis, rhizosphere samples were more scattered than bulk soil samples. The first axis distinguished two groups of individuals: (i) rhizosphere individuals of High and Moderate crop-diversification levels (Fig. 4.1a), associated with high enzyme activities and phosphate fluxes (Fig. 4.1b), and (ii) all bulk soil individuals and rhizosphere individuals of the Low crop-diversification level (Fig. 4.1a), associated with high nitrate fluxes (Fig. 4.1b).

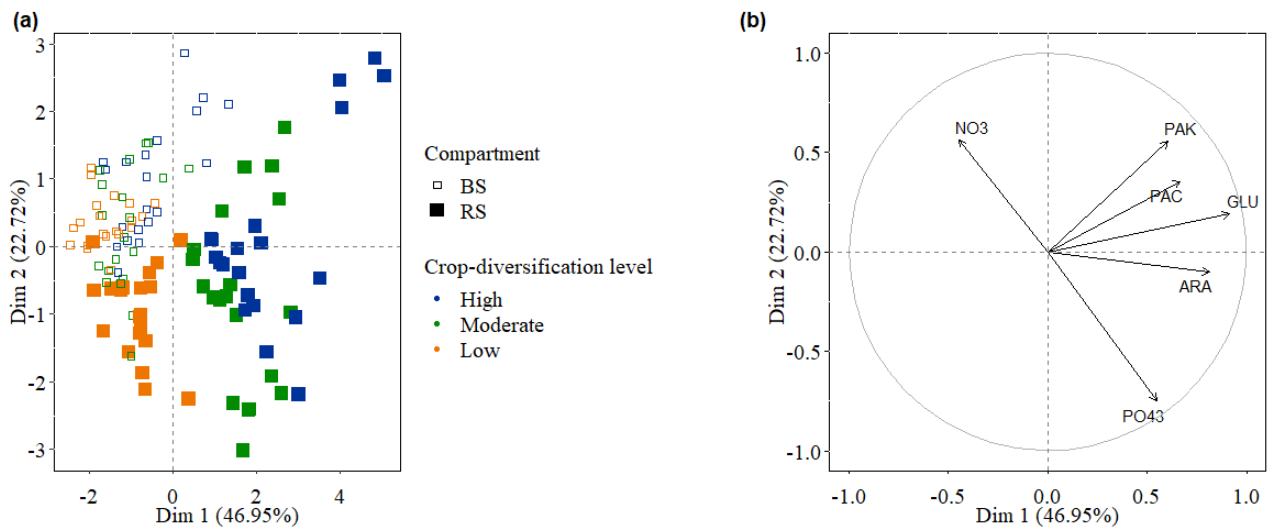


Figure 4.1 : Graphs of (a) individuals and (b) variables of principal component analysis (PCA) of bulk soil and rhizosphere variables collected on each sampling date (t_1 , t_2 , t_3 , t_4 , t_5) for each crop-diversification level (High, Moderate and Low). The variances explained by PCA axes are given in parentheses. $N=4$ replicates were collected per soil compartment, per crop-diversification level and per sampling date.

The REI indicators confirmed the results of the PCA because many of them differed significantly from zero, which indicated a strong rhizosphere effect. Each REI indicator was then used to identify the significance and sign of the rhizosphere effect over the cropping cycle for each crop-diversification level (Table 4.3). Most REI_{NO3} values differed significantly from zero and were negative (Fig.4.2a, Table 4.3), due to higher mean nitrate fluxes in bulk soil than in the rhizosphere (213 and $41 \mu\text{g day}^{-1}$, respectively; Online resource 3). The REI_{NO3} for the Low crop-diversification level differed significantly from zero but not from those of the other levels at t_2 , which corresponded to fertilization. For REI_{PO43}, fewer values differed significantly from zero, especially for the Moderate and Low crop-diversification levels, as shown by non-significant P-values (Fig. 4.2b, Table 4.3). Most REI_{PO43} values were positive, however, which indicated higher mean phosphate fluxes in the rhizosphere than those in bulk soil (2.7 and $0.4 \mu\text{g day}^{-1}$, respectively; Online resource 3). For the Low crop-diversification level, the enzyme-based REIs never differed significantly from zero, except for REI_{ARA} at t_2 (Fig. 4.3d, Table 4.3). Conversely, the High and Moderate crop-diversification levels had positive enzyme-based REIs due to higher enzyme activities in the rhizosphere than in bulk soil. For instance, mean PAC activities were 67 and 56 mU g^{-1} in the rhizosphere and bulk soil, respectively, while mean PAK activities were 31 and 25 mU g^{-1} , respectively (Online resource 3). Mean GLU activities were 15 and 10 mU g^{-1} in the rhizosphere and bulk soil, respectively, while mean ARA activities were the lowest: 6 and 4 mU g^{-1} , respectively (Online resource 3).

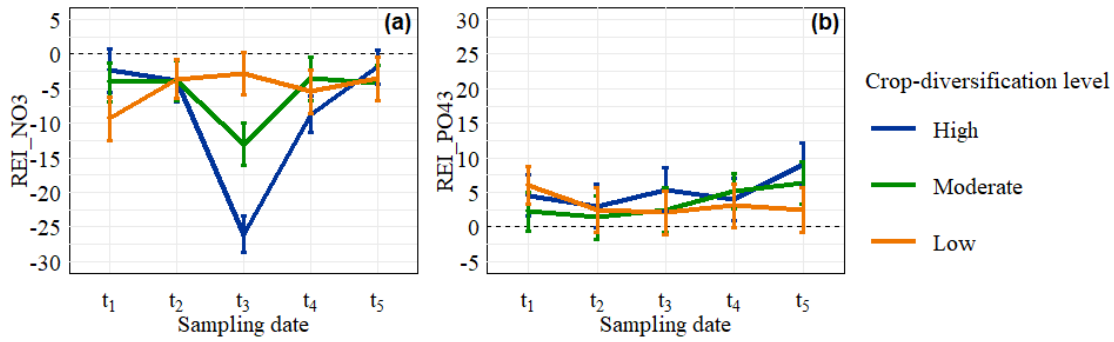


Figure 4.2 : The Rhizosphere Effect Indicator (REI) calculated with (a) nitrate (REI_{NO3}) and (b) phosphate (REI_{PO43}) fluxes measured in bulk soil and rhizosphere soil on each sampling date (t_1, t_2, t_3, t_4, t_5) after incubation of anion exchange membranes in each crop-diversification subplot (High, Moderate and Low). Vertical bars indicate 95% confidence intervals, and REIs differed significantly from zero when their confidence intervals excluded zero. Positive values of REI indicated higher values of the variable in rhizosphere than in bulk soil, while negative values indicated higher values in bulk soil than in rhizosphere. $N=4$ replicates were collected per soil compartment, per crop-diversification level and per sampling date.

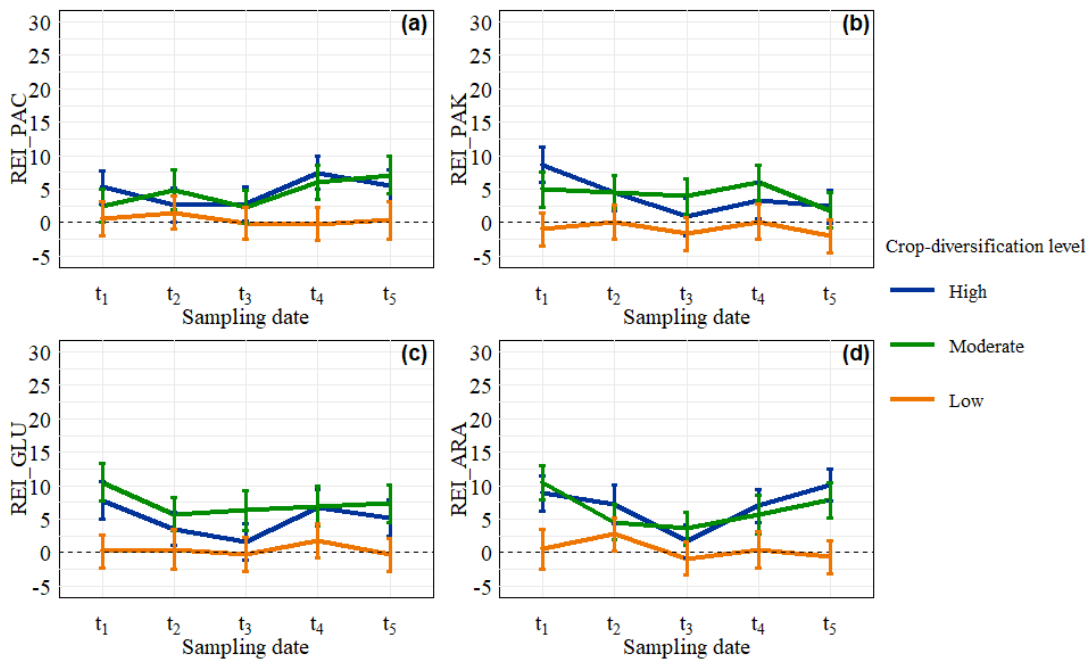


Figure 4.3 : The Rhizosphere Effect Indicator (REI) calculated with activities of (a) acid phosphatase (REI_{PAC}), (b) alkaline phosphatase (REI_{PAK}), (c) β -glucosidase (REI_{GLU}) and (d) arylamidase (REI_{ARA}) measured in bulk soil and rhizosphere soil on each sampling date (t_1, t_2, t_3, t_4, t_5) for each crop-diversification level (High, Moderate and Low). Vertical bars indicate 95% confidence intervals, and REIs differed significantly from zero when their confidence intervals excluded zero. Positive values of REI indicated higher values of the variable in rhizosphere than in bulk soil, while negative values indicated higher values in bulk soil than in rhizosphere. $N=4$ replicates were collected per soil compartment, per crop-diversification level and per sampling date.

3.2. Rhizosphere functioning over the crop cycle

The Rhizosphere Effect Indicators were used to determine whether the intensity of the rhizosphere effect fluctuated among sampling dates (Online resource 3). The Rhizosphere Effect Indicators varied significantly among sampling dates within each crop-diversification level (Table 4.3), but more strongly for the High level for both nutrient fluxes and enzyme activities. For the Moderate level, only values of REI_NO3, REI_PO43 and REI_ARA fluctuated among sampling dates. For the Low level, differences among sampling dates were observed only for REI_NO3. For REI_NO3, High and Moderate levels had their lowest values at t_3 (*i.e.* flowering) (-26.1 and -13.0, respectively), while the Low level reached its lowest value (-9.3) at t_1 (Fig. 4.2a, Table 4.3). For REI_PO43, values for the High and Moderate levels tended to increase from t_1 to t_5 (Fig. 4.2b, Table 4.3), especially for the latter, while those for the former continually increased at a lower rate. In comparison, REI_PAC increased and REI_PAK decreased over time for the High level (Fig. 4.3a, 4.3b, Table 4.3). For REI_GLU, values for the High level decreased from 7.8 at t_1 to 1.6 at t_3 and then increased to 5.2 at t_5 (Fig. 4.3c, Table 4.3). For REI_ARA, values for the High level also decreased (from 8.9 at t_1 to 1.8 at t_3) and then increased (to 10.1 at t_5), while those for the Moderate level decreased from t_1 to t_3 and then remained stable (Fig. 4.3d, Table 4.3). Considering only High and Moderate levels, t_3 was notable because REI_NO3, REI_PO43 and the four enzyme-based REI either changed their trend or had a maximum or minimum value during this stage.

Chapitre 4

Table 4.3: Values of the Rhizosphere Effect Indicator (REI) calculated with nitrates fluxes (REI_NO3), phosphates fluxes (REI_PO43), acid phosphatase activities (REI_PAC), alkaline phosphatase activities (REI_PAK), β -glucosidase activities (REI_GLU) and arylamidase activities (REI_ARA) at each sampling date (t_1 , t_2 , t_3 , t_4 , t_5 ; $N=4$) and for the three crop-diversification levels (High, Moderate and Low). P values when comparing to 0 (Welch t -test; $P < 0.05$) are indicated under their associated REI value. According to a multiple pairwise comparison followed by Bonferroni corrections ($P < 0.05$), bold letters represent significant differences between REI values: lowercase letters represent significant differences between crop-diversification levels at the same sampling date, capital letters represent significant differences between sampling dates within the same crop-diversification level.

Variable	Crop-diversification level	Sampling date				
		t_1	t_2	t_3	t_4	t_5
REI_NO3	High	-2.33 a A	-3.82 A	-26.10 c C	-8.70 b B	-1.86 a A
	P	0.100	0.029	0.000	0.000	0.115
	Moderate	-4.04 a A	-3.81 A	-13.00 b B	-3.56 a A	-4.17 a A
	P	0.017	0.021	0.001	0.036	0.008
	Low	-9.30 b B	-3.59 A	-2.82 a A	-5.41 ab B	-3.55 a A
	P	0.002	0.022	0.060	0.011	0.038
REI_PO43	High	4.54 AB	2.99 B	5.38 AB	3.95 B	9.09 a A
	P	0.016	0.058	0.012	0.025	0.003
	Moderate	2.23 AB	1.35 B	2.46 AB	5.16 AB	6.33 ab A
	P	0.093	0.270	0.091	0.003	0.006
	Low	6.07	2.44	2.04	3.04	2.43 b
	P	0.003	0.092	0.134	0.056	0.093
REI_PAC	High	5.27 a AB	2.54 B	2.82 AB	7.41 a A	5.50 AB
	P	0.002	0.051	0.035	0.000	0.002
	Moderate	2.53 ab	4.91	2.36	6.01 a	7.10
	P	0.050	0.012	0.060	0.001	0.002
	Low	0.57 b	1.48	-0.09	-0.23 b	0.36
	P	0.598	0.196	0.933	0.823	0.734
REI_PAK	High	8.64 a A	4.41 a B	0.90 ab B	3.29 ab B	2.37 a B
	P	0.000	0.008	0.422	0.025	0.061
	Moderate	4.93 a	4.54 a	3.91 a	5.95 a	1.80 ab
	P	0.005	0.005	0.011	0.002	0.135
	Low	-1.02 b	0.06 b	-1.69 b	0.10 b	-2.02 b
	P	0.346	0.955	0.143	0.921	0.092
REI_GLU	High	7.75 a A	3.53 b AB	1.58 ab B	6.74 a A	5.22 a AB
	P	0.002	0.014	0.183	0.002	0.006
	Moderate	10.46 a	5.70 a	6.32 a	6.89 a	7.37 a
	P	0.001	0.001	0.005	0.004	0.002
	Low	0.19 b	0.48 b	-0.32 b	1.74 b	-0.34 b
	P	0.858	0.663	0.762	0.138	0.748
REI_ARA	High	8.86 a A	7.25 a A	1.76 ab B	6.97 a A	10.10 a A
	P	0.000	0.003	0.131	0.001	0.000
	Moderate	10.46 a A	4.53 ab B	3.62 a B	5.64 a AB	7.85 a AB
	P	0.000	0.007	0.012	0.007	0.001
	Low	0.555 b	2.737 b	-0.923 b	0.387 b	-0.693 b
	P	0.614	0.034	0.392	0.716	0.515

3.3. Biomolecular analysis and integration into the REI at the flowering stage

Initially, 7,521 bacterial and 995 fungal ASVs were detected. After the rarefaction step, 315 bacterial and 38 fungal ASVs as well as 1 bacterial sample (rhizosphere sample from the Low crop-diversification level) were eliminated. Ultimately, 984 bacterial and 410 fungal ASVs remained after the proportion-expressed and filtration steps. Bacterial and fungal alpha diversity indices were not influenced significantly by the soil compartment or the interaction between the soil compartment and the crop-diversification level (Fig. 4.4, Online resource 4).

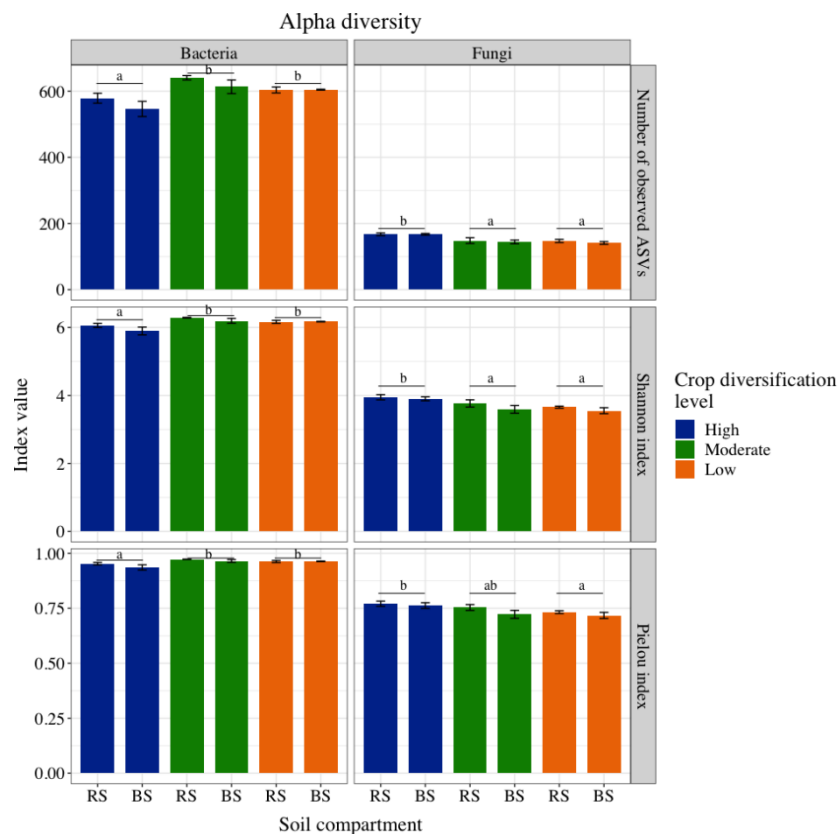


Figure 4.4 : Bacterial and fungal alpha diversity, represented by the number of amplicon sequence variants (ASVs) observed and Shannon and Pielou indices (mean \pm SE) measured at the flowering stage for each crop-diversification level (High, Moderate and Low). Letters indicate significant differences among crop-diversification levels for both bacteria and fungi. N=4 replicates were collected per soil compartment and per crop-diversification level (see Online resource 4).

However, the crop-diversification level significantly influenced the number of ASVs observed ($P=0.003$ for both bacteria and fungi) and the Shannon ($P=0.003$ and $P=0.005$ for bacteria and fungi, respectively) and Pielou indices ($P=0.003$ and $P=0.016$ for bacteria and fungi, respectively). For bacteria, the number of ASVs observed and the Shannon and Pielou indices for the High crop-diversification level were significantly lower than those for the two other levels, which were similar to each other. The opposite trend was observed for fungi, for which all three indices had higher values for the High crop-diversification level, while the Moderate level had a similar Pielou index as the High and Low levels. For beta diversity, the model for bacteria explained 66% of the total variance (35% by the crop-

diversification level and 10% by the soil compartment), while the model for fungi explained 73% (52% by the crop-diversification level and 5% by the soil compartment). Community structure was influenced significantly by the crop-diversification level ($P=0.001$ for both bacteria and fungi), soil compartment ($P=0.001$ for both bacteria and fungi) and their interaction ($P=0.002$ for bacteria $P=0.006$ for fungi, Fig. 4.5, Online resource 4). For both bacteria and fungi, the three crop-diversification levels were distinct from each other. Similarly, the soil compartment (bulk soil or rhizosphere) differed at the High and Moderate levels but clustered together at the Low level. An REI indicator was calculated from each bacterial and fungal alpha diversity index (Table 4.4), but neither of them differed significantly from zero. However, their values were positive except for the bacterial REI_Shannon and REI_Pielou for the Low crop-diversification level.

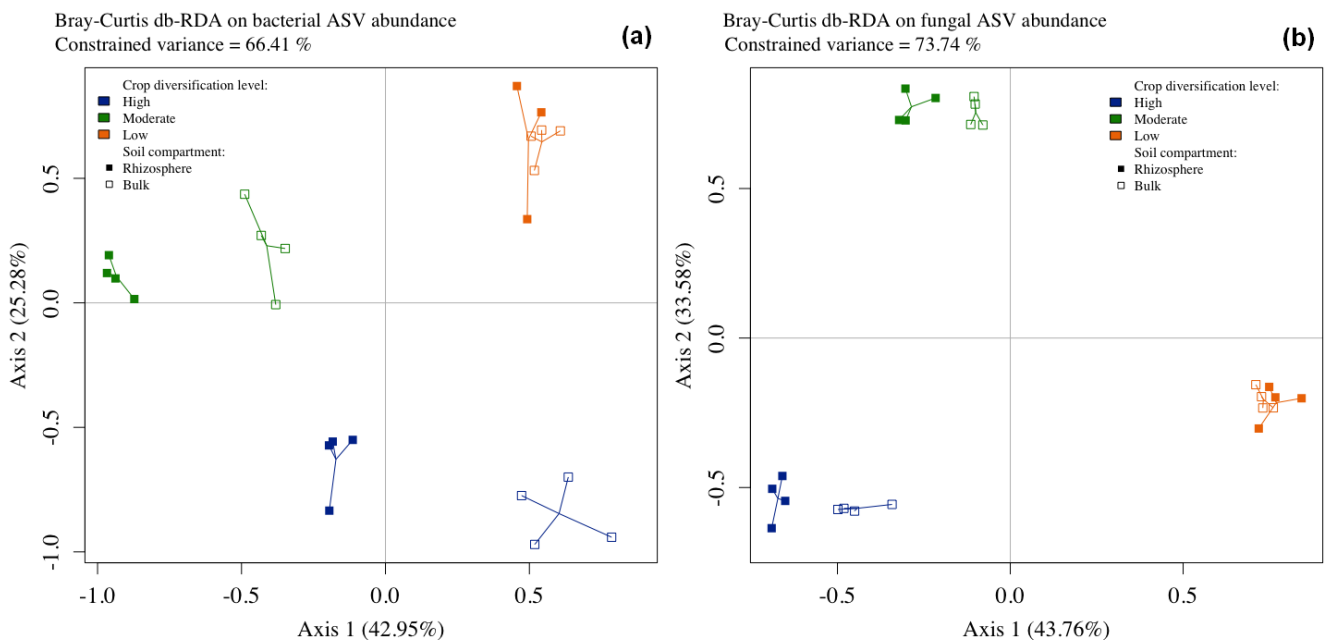


Figure 4.5: (a) Bacterial and (b) fungal beta diversity measured at the flowering stage for each crop-diversification level (High, Moderate and Low) and analyzed using a Bray-Curtis distance-based redundancy analysis (db-RDA). The variances explained by db-RDA axes are given in parentheses. $N=4$ replicates were collected per soil compartment and per crop-diversification level.

Table 4.4: Values of the Rhizosphere Effect Indicator (REI) based on bacterial and fungal richness (REI_ASVs), diversity (REI_Shannon) and evenness (REI_Pielou) at flowering for each crop-diversification level. P values of each REI when comparing with the 0 are indicated in brackets (Welch t.test; $P < 0.05$).

Taxon	Crop-diversification level	Date of flowering	REI_ASVs (richness)	REI_Shannon (diversity)	REI_Pielou (evenness)
Bacteria	High	t ₂	1.186 (0.287)	1.257 (0.270)	1.286 (0.264)
	Moderate	t ₃	1.258 (0.283)	1.274 (0.289)	1.228 (0.306)
	Low	t ₂	0.037 (0.974)	-0.195 (0.861)	-0.283 (0.799)
Fungi	High	t ₂	0.052 (0.960)	0.465 (0.659)	0.479 (0.649)
	Moderate	t ₃	0.387 (0.714)	1.113 (0.308)	1.389 (0.218)
	Low	t ₂	0.955 (0.377)	0.376 (0.335)	0.977 (0.382)

3.4. Distinguishing the crop-diversification level using the REI

The REI indicators were used to determine the influence of crop-diversification on the intensity of the rhizosphere effect. For REI_NO3, the value for the Low crop-diversification level was significantly lower (-9.3) than those for the High and Moderate levels (-2.33 and -4.04, respectively) at t₁, then significantly higher at t₃, while fewer values differed significantly among levels at t₄ and t₅ (Fig. 4.2a, Table 4.3). For REI_PO43, only t₅ (i.e. ripening or senescence) showed a significant difference among levels, with the High level having a higher REI value than the Low level (Fig. 4.2b, Table 4.3). The Low crop-diversification level had the lowest values of REI_PAC and REI_PAK (close to zero), which indicated a weak rhizosphere effect. The REI_PAC for the High level was significantly higher than that for the Low level at t₁ and t₄, while that for the Moderate level was significantly higher only at t₄. REI_PAC did not differ significantly among the three levels on the other sampling dates (Fig. 4.3a, Table 4.3). For REI_PAK, the Low crop-diversification level had significantly lower values at t₁ and t₂ than the other two levels, which had similar values (Fig. 4.3b, Table 4.3). The Moderate crop-diversification level tended to have higher REI indicator values than the High level at t₃ and t₄. For REI_GLU, the Moderate crop-diversification level had significantly higher values than the Low level on each sampling date, while the High level had significantly higher values than the Low one only at t₁, t₄ and t₅ (Fig. 4.3c, Table 4.3). For REI_ARA, the High and Moderate crop-diversification levels had significantly higher values than the Low level at t₁, t₄ and t₅, while at t₂ only the High level and at t₃ only the Moderate level differed from the Low one (Fig. 4.3d, Table 4.3).

To facilitate interpretation of individual REIs, an integrated REI was calculated as a proxy of the total rhizosphere effect, described here as a combination of nutrient fluxes and the activity of the four enzymes measured. The integrated REI showed a strong rhizosphere effect, since most values were

significantly positive, and the remaining ones (the Low crop-diversification level at t_1 and t_5) did not differ from zero (Fig. 4.6, Table 4.5). Additionally, the integrated REI of the High crop-diversification level was the only one that fluctuated significantly over sampling dates, with minimum and maximum values at t_3 and t_4 , respectively. The Low crop-diversification level had significantly lower integrated REI values than the other two levels (except at t_2 for the Moderate level and at t_3 for the High level). Integrated REI values of High and Moderate levels differed significantly only at t_3 . The integrated REI peaked for High, Moderate and Low crop-diversification levels at t_4 (i.e. fruit development and ripening), with values of 12.64, 10.40 and 3.58, respectively.

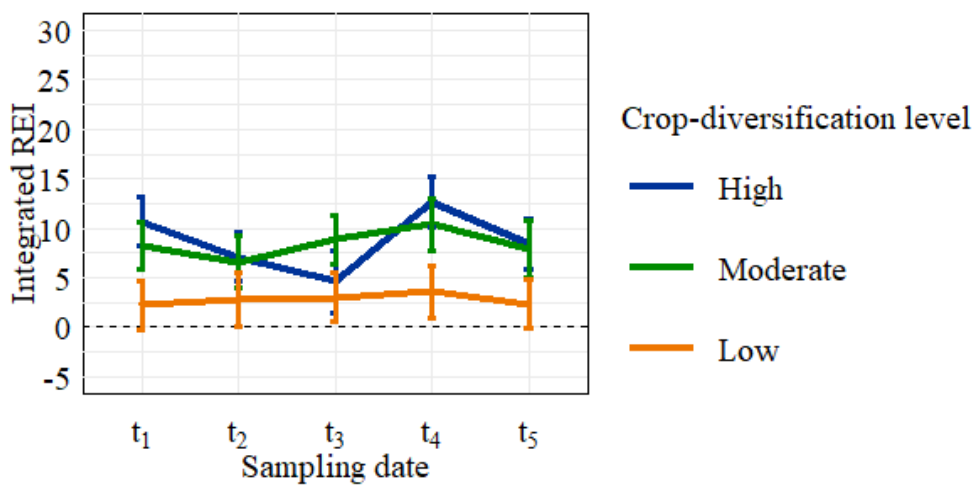


Figure 4.6 : The integrated Rhizosphere Effect Indicator (REI) calculated with the coordinates of bulk soil and rhizosphere soil samples on the first component of principal component analysis of fluxes of nitrates and phosphates and activities of acid and alkaline phosphatase, β -glucosidase and arylamidase on each sampling date (t_1 , t_2 , t_3 , t_4 , t_5). Vertical bars indicate 95% confidence intervals, and the REI differed significantly from zero when its confidence interval excluded zero. Positive values of the REI indicated higher values of the variable in rhizosphere than in bulk soil, while negative values indicated higher values in bulk soil than in rhizosphere. $N=4$ replicates were collected per soil compartment, per crop-diversification level (High, Moderate, Low) and per sampling date.

Table 4.5 : Values of the integrated Rhizosphere Effect Indicator (REI). Integrated REI were calculated with the coordinates of the samples collected in bulk and rhizosphere soils on the first component of the PCA at each sampling date (t_1 , t_2 , t_3 , t_4 and t_5) and for the three crop-diversification levels (High, Moderate and Low). P values are indicated under their associated REI values (Welch t -test; $P < 0.05$). According to a multiple pairwise comparison followed by Bonferroni corrections ($P < 0.05$), bold letters represent significant differences between REI values: lowercase letters represent significant differences between crop-diversification levels at the same sampling date, capital letters represent significant differences between sampling dates within the same crop-diversification level.

Crop-diversification level	Sampling date				
	t_1	t_2	t_3	t_4	t_5
High	10.63 a AB	7.09 a BC	4.60 b C	12.64 a A	8.34 a ABC
P	0.000	0.000	0.017	0.000	0.000
Moderate	8.24 a	6.62 ab	8.88 a	10.41 a	7.91 a
P	0.000	0.001	0.000	0.000	0.002
Low	2.20 b	2.81 b	3.00 b	3.58 b	2.34 b
P	0.072	0.046	0.024	0.017	0.059

4. Discussion

4.1. Interpretation and advantages of the REI's ability to represent rhizosphere effects in cultivated fields

We observed several significant differences between the bulk soil and the rhizosphere and evaluated the sign and intensity of the Rhizosphere Effect Indicator (REI), which highlighted plant-induced effects. We estimated many significant values of the indicator based on nutrient-flux or enzymatic variables. The signs of the indicator were consistent with knowledge about rhizosphere processes. For example, negative REI_NO3 values highlighted lower nitrate fluxes in the rhizosphere than in bulk soils, which we attributed to intense nitrate uptake in the rhizosphere that decreased nitrate concentration near roots ([Barber and Cushman 1981](#), [Dotaniya and Meena 2015](#), [Kuzyakov and Razavi 2019](#)). According to [Moreau et al. \(2019\)](#) and [Philippot et al. \(2013\)](#), plant roots can influence N cycling, especially nitrification, denitrification and N mineralization. Concerning N cycling, ARA activity is a proxy of organic N mineralization in soils, since ARA hydrolyses the N terminal of peptides and amines in soils ([Dodor and Tabatabai 2007](#), [Dodor and Tabatabai 2020](#)). For the High and Moderate crop-diversification levels, REI_ARA was sensitive to the crop-diversification level and sampling date (Fig. 4.3d, Table 4.3), while for the Low crop-diversification level, REI_ARA never differed from zero, which suggests a different pattern of N cycling in the rhizosphere compared to those of the other crop-diversification levels. Conversely, higher phosphate concentrations in the rhizosphere contributed to positive REI_PO43 values. Similar results were reported in the literature ([Hinsinger 2001](#), [Hinsinger et al. 2011b](#)) when P uptake by roots was lower than replenishment of P in the soil solution but differed among plant species ([Wang et al. 2004](#)). In agreement with the positive values of REI_PO43, the small variation in REI_PAK and REI_PAC activities over the crop cycle may have been due to the control of enzyme expression ([Lemercier et al. 2008](#), [Nannipieri et al. 2011](#)) by soil available P content (Tables 4.1 and 4.2). According to the French P fertilization guide, the three soils are considered as being rich in P, which highlights the environmental result of increased P availability in the root zone under intense precipitation events indicated by the positive values of REI_PO43.

The REI was able to distinguish effects of (i) crop-diversification pattern and (ii) plant development on the rhizosphere effect, especially for the High and Moderate crop-diversification levels. Based on the individual Rhizosphere Effect Indicators, we were able to distinguish two groups of farms: (i) High and Moderate crop-diversification levels, in which rhizosphere functioning is intact, and (ii) the Low crop-diversification level, in which rhizosphere functioning is limited. The High crop-diversification level was distinguished by both alpha and beta diversities of bacteria and fungi, while the Moderate and Low crop-diversification levels were distinguished only by the beta diversity of bacteria and fungi. Our

results are consistent with those of [Burrows and Pflieger \(2002\)](#) and [LeBlanc et al. \(2015\)](#), who observed that fungal diversity in bulk soil and the rhizosphere increased as crop diversity increased. However, limited soil management under the High and Moderate crop-diversification levels can also be recommended to alter fungal diversity and relative abundance, but recent articles have debated this issue ([Ryan and Graham 2018](#)). Overall, the indicators calculated with nutrient fluxes and enzyme activities suggested a more subtle diversification gradient than that estimated by Tiemann's method. Rhizosphere dynamics are influenced by the plant-development stage ([Garbeva et al. 2008](#), [Donn et al. 2015](#), [Zhalnina et al. 2018](#)), especially at flowering, which has high rates of root exudation and nutrient uptake ([Mougel et al. 2006](#)). The four enzyme-based REIs, especially REI_ARA and REI_GLU, distinguished the flowering stage for the Moderate crop-diversification level. Moreover, REI_NO3 and REI_ARA significantly highlighted the fruit-development stage (t_3) for the High crop-diversification level. For the Moderate crop-diversification level, REI_NO3 and, to a lesser extent, REI_PO43 also contributed. Inspired by the "soil quality index" ([Armenise et al. 2013](#)), we experimented with development of a statistically based integrated Rhizosphere Effect Indicator, which reduced the dimensionality of the entire dataset into a single holistic value that was easier to interpret. According to the integrated REI, the rhizosphere effect was strongest not at flowering, as we had expected, but at fruit development and ripening (t_4). Thus, the integrated Rhizosphere Effect Indicator has the advantage of summarizing the information provided by the individual Rhizosphere Effect Indicator. Consequently, depending one's objectives and knowledge of the rhizosphere effect, one can choose either the integrated or individual Rhizosphere Effect Indicators.

4.2. Limits of the REI's ability to represent rhizosphere effects in cultivated fields

The Rhizosphere Effect Indicator based on biomolecular analysis was less informative than those based on nutrients and enzymes. We expected the biomolecular-based indicators to respond more at the flowering stage than they did, according to the literature ([Grayston et al. 1998](#), [Smalla et al. 2001](#), [Mougel et al. 2006](#)). According to [Ryan and Graham \(2018\)](#), temporal crop diversification (crop rotation) and soil management can influence fungal diversity, in particular arbuscular mycorrhizae. These confounding factors could not be disentangled in our study, which highlights limitations of the indicator and the need for complementary analyses, such as determining the degree of infection by arbuscular mycorrhizae ([Pellegrino et al. 2015](#)), or targeting certain groups of soil microbes, such as Glomeromycota fungi and other plant symbionts involved in nutrient acquisition by plants. However, because our statistical approach tested more than one hypothesis simultaneously, a multiple-testing approach should be considered. When individual tests are assumed to be independent, many methods have been developed to control the family-wise error rate (e.g. Bonferroni correction) or the false-discovery rate (e.g. the Benjamini-Hochberg procedure). For bacterial and fungal data, however,

individual tests are highly dependent, and traditional methods for multiple-testing correction are known to be inefficient ([Friguet et al. 2009](#)). A specific method that considers the dependence observed between individual tests needs to be developed to better transform the taxonomic values into Rhizosphere Effect Indicators. Accordingly, cutting-edge methods, such as phylogenetic interpretation of communities (PICRUSt), which is based on 16S RNA and captures the relation between phylogenetic analysis of microbial communities and their functions ([Langille et al. 2013](#)), or analysis of ecological network properties, could be considered to supplement the information provided by the biomolecular Rhizosphere Effect Indicators ([Friedman and Alm 2012](#)). However, we argue that these REIs are more sensitive to soil sampling than those based on nutrients or enzymes. Manual shaking may have diluted effects of root exudates on bacterial and fungal biomasses and diversities. Since rhizosphere boundaries are defined by many factors, such as root architecture, plant water uptake, root respiration and nutrient depletion ([Hübel and Beck 1993](#), [Badalucco and Nannipieri 2007](#), [Kuzyakov and Razavi 2019](#)), as well as operator handling, methods to collect bulk and rhizosphere soils in field experiments cannot be standardized. We did consider a more effective sampling method that included washing roots ([Barillot et al. 2013](#)), but it did not seem relevant for collecting soils for enzyme activities and not adapted to routine soil analysis. We thus considered our methodological approach a reasonable trade-off between practical and scientific considerations. Despite their results, the biomolecular-based rhizosphere indicators may remain useful. Their results call for developing a different approach to integrate biomolecular information into the Rhizosphere Effect Indicator (see section 4.3 for potential prospects), with a cost/benefit analysis of biomolecular acquisition as a function of one's objective for determining the rhizosphere effect. In the present study, soil water content had no significant influence on nutrient-flux or enzyme-based indicators (Online resource 1), despite the variation in soil water content among sites and dates inherent to a field experiment. Our field method, derived from Qian and Schoenau (2002), which limits effects of soil water content on determination of nutrient fluxes using anion-exchange membranes, could thus be considered robust. Nonetheless, relationships between the Rhizosphere Effect Indicator and soil water content, especially for enzyme-based indicators, need to be analyzed in other pedoclimatic contexts ([Qian and Schoenau 2002](#), [Hinojosa et al. 2004](#)) to assess the overall robustness of the indicator.

4.3. Applications and future prospects

Environmental or ecological indicators are developed to assess an ecosystem's state of functioning by providing simplified information about a complex phenomenon of interest ([Bockstaller and Girardin 2003](#), [Heink and Kowarik 2010](#), [Müller et al. 2020](#)). To our knowledge, a Rhizosphere Effect Indicator has never been developed, despite the large body of literature that has highlighted the importance of the rhizosphere since the pioneering study of Hiltner ([1904](#)). We are convinced that our indicator can

be used for a variety of objectives to develop rhizosphere engineering ([Ryan et al. 2009](#)). The Rhizosphere Effect Indicator could help researchers design and assess cropping systems based on plant-rhizosphere microbiota with an ambitious decrease in inputs, which is considered necessary for development of pesticide-free agriculture in France and other countries in Europe ([European Research Alliance 2020](#)). Accordingly, we encourage plant breeders to use the Rhizosphere Effect Indicator as a selection trait to release genotypes that fully express their genetic potential with the soil microbiome ([Hatfield and Walthall 2015](#)). In particular, the ability of new genotypes to interact with beneficial soil organisms to induce systemic resistance is a promising avenue ([Bakker et al. 2012](#), [Gopal and Gupta 2016](#)). New genotypes are also essential to develop plant mixtures in which genotypes can coexist ([Litrice and Violle 2015](#), [Sampoux et al. 2020](#)) through positive plant-plant interactions in order to reduce fertilizer inputs via rhizosphere processes ([Hinsinger et al. 2011a](#)). These considerations require assessing functional relationships between plant traits and microbiota. Nutrient fluxes and enzyme activities summarize rhizosphere functioning, but plant-microbiota interactions can be described more accurately with methods that use biomolecular datasets. Developing a more functional approach to the Rhizosphere Effect Indicator may also help understand the contribution of the rhizosphere to plant-soil feedbacks ([Hu et al. 2018](#)) or ecosystem services ([Wander et al. 2019](#)).

We estimated the most intense rhizosphere effect under the High crop-diversification level, which suggests that the rhizosphere effect should be assessed when designing crop rotations or plant mixtures, in order to engage farmers in the agroecological transition. Our integrated REI is more suited to this objective than the individual REIs. Anion-exchange membranes are reusable, not influenced by soil type and can be adapted to the colorimetric evaluation of nitrate and phosphate availability performed in routine soil analysis. Enzyme assays are considered proxies of microbial activities and are repeatable, reproducible and sensitive to environmental changes or perturbations ([Cheviron et al. 2021](#)). Moreover, enzyme assays in micro-well plates can be developed for fast-throughput routine soil analysis. Accordingly, the integrated Rhizosphere Effect Indicator based on nutrient fluxes and enzymes is promising, but a reference dataset remains to be developed to interpret the values. This issue can be addressed only if plant and soil scientists, farmers and routine-testing companies engage in participative research.

5. Conclusion

The Rhizosphere Effect Indicator is designed for users who need to reveal interactions between plants and soils. Based on recent developments in rhizosphere ecology, the Rhizosphere Effect Indicator can describe dynamics of the rhizosphere effect under field conditions, and has been tested to distinguish effects of crop diversification on the rhizosphere effect. Accordingly, plant breeders, soil ecologists and

cropping-system designers are the audience targeted by the Rhizosphere Effect Indicator in order to develop new cropping systems with no or few inputs. Given urgent need to accelerate the agroecological transition, development of this indicator may be included in the plant-soil research agenda and supported by policy makers as a rhizosphere quality indicator that complements soil quality indicators.

6. References

- Alegria Terrazas, R., K. Balbirnie-Cumming, J. Morris, P. E. Hedley, J. Russell, E. Paterson, E. M. Baggs, E. Fridman, and D. Bulgarelli. 2020. A footprint of plant eco-geographic adaptation on the composition of the barley rhizosphere bacterial microbiota. *Scientific Reports* **10**. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69672-x>
- Armenise, E., M. A. Redmile-Gordon, A. M. Stellacci, A. Ciccacese, and P. Rubino. 2013. Developing a soil quality index to compare soil fitness for agricultural use under different managements in the Mediterranean environment. *Soil & Tillage Research* **130**:91-98. <https://doi.org/10.1016/j.still.2013.02.013>
- Badalucco, L., and P. Nannipieri. 2007. Nutrient transformations in the rhizosphere. Pages 111-133 *in* R. Pinton, Z. Varanini, and P. Nannipieri, editors. *The rhizosphere : biochemistry and organic substances at the soil-plant interface*. CRC Press, Boca Raton, Florida. <https://www.taylorfrancis.com/chapters/mono/10.1201/9781420005585-9/nutrient-transformations-rhizosphere-roberto-pinton-zeno-varanini-paolo-nannipieri>
- Badri, D. V., and J. M. Vivanco. 2009. Regulation and function of root exudates. *Plant Cell and Environment* **32**:666-681. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.01926.x>
- Bais, H. P., T. L. Weir, L. G. Perry, S. Gilroy, and J. M. Vivanco. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual review of plant biology* **57**:233-266. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159>
- Bakker, M. G., D. K. Manter, A. M. Sheflin, T. L. Weir, and J. M. Vivanco. 2012. Harnessing the rhizosphere microbiome through plant breeding and agricultural management. *Plant and Soil* **360**:1-13. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1361-x>
- Bakker, P., R. L. Berendsen, R. F. Doornbos, P. C. A. Wintermans, and C. M. J. Pieterse. 2013. The rhizosphere revisited: root microbiomics. *Frontiers in Plant Science* **4**:7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00165>
- Barber, S., and J. Cushman. 1981. Nitrogen uptake model for agronomic crops. Pages 382-489 *in* I. Iskandar, editor. *Modeling wastewater renovation: Land treatment*. Wiley Interscience, New York.
- Barillot, C. D. C., C. O. Sarde, V. Bert, E. Tarnaud, and N. Cochet. 2013. A standardized method for the sampling of rhizosphere and rhizoplan soil bacteria associated to a herbaceous root system. *Annals of Microbiology* **63**:471-476. <https://doi.org/10.1007/s13213-012-0491-y>
- Berendsen, R. L., C. M. J. Pieterse, and P. Bakker. 2012. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in Plant Science* **17**:478-486. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>
- Berg, G., and K. Smalla. 2009. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *Fems Microbiology Ecology* **68**:1-13. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00654.x>
- Blossfeld, S., C. M. Schreiber, G. Liebsch, A. J. Kuhn, and P. Hinsinger. 2013. Quantitative imaging of rhizosphere pH and CO₂ dynamics with planar optodes. *Annals of Botany* **112**:267-276. <https://doi.org/10.1093/aob/mct047>
- Bockstaller, C., and P. Girardin. 2003. How to validate environmental indicators. *Agricultural Systems* **76**:639-653. [https://doi.org/10.1016/s0308-521x\(02\)00053-7](https://doi.org/10.1016/s0308-521x(02)00053-7)

- Breitkreuz, C., F. Buscot, M. Tarkka, and T. Reitz. 2020. Shifts Between and Among Populations of Wheat Rhizosphere *Pseudomonas*, *Streptomyces* and *Phyllobacterium* Suggest Consistent Phosphate Mobilization at Different Wheat Growth Stages Under Abiotic Stress. *Frontiers in Microbiology* **10**:15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03109>
- Burns, R. G., J. L. DeForest, J. Marxsen, R. L. Sinsabaugh, M. E. Stromberger, M. D. Wallenstein, M. N. Weintraub, and A. Zoppini. 2013. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. *Soil Biology & Biochemistry* **58**:216-234. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.11.009>
- Burrows, R. L., and F. L. Pfleger. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi respond to increasing plant diversity. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* **80**:120-130. <https://doi.org/10.1139/b01-138>
- Callahan, B. J., P. J. McMurdie, M. J. Rosen, A. W. Han, A. J. A. Johnson, and S. P. Holmes. 2016. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods* **13**:581-583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Cardinale, B. J., M. A. Palmer, and S. L. Collins. 2002. Species diversity enhances ecosystem functioning through interspecific facilitation. *Nature* **415**:426-429. <https://doi.org/10.1038/415426a>
- Carminati, A., and D. Vetterlein. 2013. Plasticity of rhizosphere hydraulic properties as a key for efficient utilization of scarce resources. *Annals of Botany* **112**:277-290. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs262>
- Castro, L. L., and J. K. Whalen. 2016. Ion exchange membranes are sensitive indicators of ammonium and nitrate released from green manures with low C/N ratios. *European Journal of Soil Biology* **77**:4-8. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2016.09.001>
- Chaparro, J. M., A. M. Sheflin, D. K. Manter, and J. M. Vivanco. 2012. Manipulating the soil microbiome to increase soil health and plant fertility. *Biology and Fertility of Soils* **48**:489-499. <https://doi.org/10.1007/s00374-012-0691-4>
- Cheviron, N., V. Grondin, C. Marraud, F. Poiroux, I. Bertrand, J. Abadie, P. Pandard, W. Riah-Anglet, C. Dubois, S. Malý, C. R. Marques, I. V. Asenjo, A. Alonso, D. M. Díaz, and C. Mougin. 2021. Inter-laboratory validation of an ISO test method for measuring enzyme activities in soil samples using colorimetric substrates. *Environmental Science and Pollution Research* **29**:29348-29357. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17173-3>
- Coleman, D. C., R. V. Anderson, C. V. Cole, E. T. Elliott, L. Woods, and M. K. Campion. 1978. Trophic interactions in soils as they affect energy and nutrient dynamics IV. Flows of metabolic and biomass carbon *Microbial Ecology* **4**:373-380. <https://doi.org/10.1007/bf02013280>
- Coskun, D., D. T. Britto, W. M. Shi, and H. J. Kronzucker. 2017. How Plant Root Exudates Shape the Nitrogen Cycle. *Trends in Plant Science* **22**:661-673. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.05.004>
- Dennis, P. G., A. J. Miller, and P. R. Hirsch. 2010. Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities? *Fems Microbiology Ecology* **72**:313-327. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00860.x>
- Dighton, J. 2014. Introduction: Soils and Their Promotion of Plant Growth. Pages 1-26 *in* J. Dighton and J. A. Krumins, editors. *Interactions in Soil: Promoting Plant Growth*. Springer Netherlands, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-017-8890-8_1
- Dodor, D. E., and M. Tabatabai. 2020. Alkaline Hydrolyzable Organic Nitrogen as an Index of Nitrogen Mineralization in Soils: Relationship with Activities of Arylamidase and Amidohydrolases. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **51**:1757-1766. <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1791162>
- Dodor, D. E., and M. A. Tabatabai. 2007. Arylamidase activity as an index of nitrogen mineralization in soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **38**:2197-2207. <https://doi.org/10.1080/00103620701549132>
- Donn, S., J. A. Kirkegaard, G. Perera, A. E. Richardson, and M. Watt. 2015. Evolution of bacterial communities in the wheat crop rhizosphere. *Environ Microbiol* **17**:610-621. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12452>

- Dotaniya, M. L., and V. D. Meena. 2015. Rhizosphere Effect on Nutrient Availability in Soil and Its Uptake by Plants: A Review. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences* **85**:1-12. <https://doi.org/10.1007/s40011-013-0297-0>
- Duru, M., O. Therond, and M. Fares. 2015. Designing agroecological transitions; A review. *Agronomy for Sustainable Development* **35**:1237-1257. <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0318-x>
- European Research Alliance. 2020. Towards a pesticide free agriculture. Available at: <https://www.era-pesticidefree.eu>
- Fierer, N., and R. B. Jackson. 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**:626-631. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507535103>
- Friedman, J., and E. J. Alm. 2012. Inferring Correlation Networks from Genomic Survey Data. *PLoS Computational Biology* **8**. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002687>
- Friguet, C., M. Kloareg, and D. Causeur. 2009. A Factor Model Approach to Multiple Testing Under Dependence. *Journal of the American Statistical Association* **104**:1406-1415. <https://doi.org/10.1198/jasa.2009.tm08332>
- Garbeva, P., J. D. van Elsas, and J. A. van Veen. 2008. Rhizosphere microbial community and its response to plant species and soil history. *Plant and Soil* **302**:19-32. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9432-0>
- Gopal, M., and A. Gupta. 2016. Microbiome Selection Could Spur Next-Generation Plant Breeding Strategies. *Frontiers in Microbiology* **7**:1971. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01971>
- Grayston, S. J., S. Q. Wang, C. D. Campbell, and A. C. Edwards. 1998. Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biology & Biochemistry* **30**:369-378. [https://doi.org/10.1016/s0038-0717\(97\)00124-7](https://doi.org/10.1016/s0038-0717(97)00124-7)
- Haichar, F. E., C. Santaella, T. Heulin, and W. Achouak. 2014. Root exudates mediated interactions belowground. *Soil Biology & Biochemistry* **77**:69-80. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.06.017>
- Hatfield, J. L., and C. L. Walthall. 2015. Meeting Global Food Needs: Realizing the Potential via Genetics x Environment x Management Interactions. *Agronomy Journal* **107**:1215-1226. <https://doi.org/10.2134/agronj15.0076>
- Heink, U., and I. Kowarik. 2010. What are indicators? On the definition of indicators in ecology and environmental planning. *Ecological Indicators* **10**:584-593. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2009.09.009>
- Hervé, M. R. 2016. RVAideMemoire: Diverse Basic Statistical and Graphical Functions. Available at: <https://CRAN.R-project.org/package=RVAideMemoire>.
- Hiltner, L. 1904. Über nevere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Boden Bakteriologie und unter besonderer Beurchsichtigung der Grundungung und Broche. *Arbeit. Deut. Landw. Ges. Berlin* **98**:59-78.
- Hinojosa, M. B., J. A. Carreira, R. Garcia-Ruiz, and R. P. Dick. 2004. Soil moisture pre-treatment effects on enzyme activities as indicators of heavy metal-contaminated and reclaimed soils. *Soil Biology & Biochemistry* **36**:1559-1568. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.07.003>
- Hinsinger, P. 1998. How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere. *Advances in Agronomy, Vol 64* **64**:225-265. [https://doi.org/10.1016/s0065-2113\(08\)60506-4](https://doi.org/10.1016/s0065-2113(08)60506-4)
- Hinsinger, P. 2001. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant and Soil* **237**:173-195. <https://doi.org/10.1023/a:1013351617532>
- Hinsinger, P., A. G. Bengough, D. Vetterlein, and I. M. Young. 2009. Rhizosphere: biophysics, biogeochemistry and ecological relevance. *Plant and Soil* **321**:117-152. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9885-9>
- Hinsinger, P., E. Betencourt, L. Bernard, A. Brauman, C. Plassard, J. B. Shen, X. Y. Tang, and F. S. Zhang. 2011a. P for Two, Sharing a Scarce Resource: Soil Phosphorus Acquisition in the Rhizosphere

- of Intercropped Species. *Plant Physiology* **156**:1078-1086. <https://doi.org/10.1104/pp.111.175331>
- Hinsinger, P., A. Brauman, N. Devau, F. Gerard, C. Jourdan, J. P. Laclau, E. Le Cadre, B. Jaillard, and C. Plassard. 2011b. Acquisition of phosphorus and other poorly mobile nutrients by roots. Where do plant nutrition models fail? *Plant and Soil* **348**:29-61. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-0903-y>
- Hinsinger, P., C. Plassard, C. X. Tang, and B. Jaillard. 2003. Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: A review. *Plant and Soil* **248**:43-59. <https://doi.org/10.1023/a:1022371130939>
- Hu, L. F., C. A. M. Robert, S. Cadot, X. Zhang, M. Ye, B. B. Li, D. Manzo, N. Chervet, T. Steinger, M. G. A. van der Heijden, K. Schlaeppli, and M. Erb. 2018. Root exudate metabolites drive plant-soil feedbacks on growth and defense by shaping the rhizosphere microbiota. *Nature Communications* **9**:1-13. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05122-7>
- Hübel, F., and E. Beck. 1993. In-situ determination of the P-relations around the primary root of maize with respect to inorganic and phytate-P. *Plant and Soil* **157**:1-9. <https://doi.org/10.1007/BF02390221>
- Hunter, P. J., G. R. Teakle, and G. D. Bending. 2014. Root traits and microbial community interactions in relation to phosphorus availability and acquisition, with particular reference to Brassica. *Frontiers in Plant Science* **5**:18. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00027>
- Huo, C. F., Y. Q. Luo, and W. X. Cheng. 2017. Rhizosphere priming effect: A meta-analysis. *Soil Biology & Biochemistry* **111**:78-84. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.04.003>
- Isbell, F., P. R. Adler, N. Eisenhauer, D. Fornara, K. Kimmel, C. Kremen, D. K. Letourneau, M. Liebman, H. W. Polley, S. Quijas, and M. Scherer-Lorenzen. 2017. Benefits of increasing plant diversity in sustainable agroecosystems. *Journal of Ecology* **105**:871-879. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12789>
- Kennedy, A. C., and L. Z. de Luna. 2005. RHIZOSPHERE. Pages 399-406 in D. Hillel, editor. *Encyclopedia of Soils in the Environment*. Elsevier, Oxford. <https://doi.org/10.1016/B0-12-348530-4/00163-6>
- Kong, H. G., G. C. Song, and C. M. Ryu. 2019. Inheritance of seed and rhizosphere microbial communities through plant-soil feedback and soil memory. *Environmental Microbiology Reports* **11**:479-486. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12760>
- Kreuzeder, A., J. Santner, V. Scharsching, E. Oburger, C. Hofer, S. Hann, and W. W. Wenzel. 2018. In situ observation of localized, sub-mm scale changes of phosphorus biogeochemistry in the rhizosphere. *Plant and Soil* **424**:573-589. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3542-0>
- Kuzyakov, Y., and E. Blagodatskaya. 2015. Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept & review. *Soil Biology & Biochemistry* **83**:184-199. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.01.025>
- Kuzyakov, Y., and B. S. Razavi. 2019. Rhizosphere size and shape: Temporal dynamics and spatial stationarity. *Soil Biology & Biochemistry* **135**:343-360. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.05.011>
- Lancashire, P. D., H. Bleiholder, T. Vandenboom, P. Langeluddeke, R. Stauss, E. Weber, and A. Witzemberger. 1991. A uniform decimal code for growth-stages of crops and weeds. *Annals of Applied Biology* **119**:561-601. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1991.tb04895.x>
- Langille, M. G. I., J. Zaneveld, J. G. Caporaso, D. McDonald, D. Knights, J. A. Reyes, J. C. Clemente, D. E. Burkpile, R. L. V. Thurber, R. Knight, R. G. Beiko, and C. Huttenhower. 2013. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nature Biotechnology* **31**:814-821. <https://doi.org/10.1038/nbt.2676>
- Le Cadre, E., M. Kinkondi, L. S. Koutika, D. Epron, and L. Mareschal. 2018. Anionic exchange membranes, a promising tool to measure distribution of soil nutrients in tropical multispecific plantations. *Ecological Indicators* **94**:254-256. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.06.041>
- Le, S., J. Josse, and F. Husson. 2008. FactoMineR: An R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software* **25**:1-18. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>

- Le Van, A., A. Quaiser, M. Duhamel, S. Michon-Coudouel, A. Dufresne, and P. Vandenkoornhuysen. 2017. Ecophylogeny of the endospheric root fungal microbiome of co-occurring *Agrostis stolonifera*. *PeerJ* **5**. <https://doi.org/10.7717/peerj.3454>
- LeBlanc, N., L. L. Kinkel, and H. C. Kistler. 2015. Soil Fungal Communities Respond to Grassland Plant Community Richness and Soil Edaphics. *Microbial Ecology* **70**:188-195. <https://doi.org/10.1007/s00248-014-0531-1>
- Lemercier, B., L. Gaudin, C. Walter, P. Arousseau, D. Arrouays, C. Schvartz, N. P. A. Saby, S. Follain, and J. Abrassart. 2008. Soil phosphorus monitoring at the regional level by means of a soil test database. *Soil Use and Management* **24**:131-138. <https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2008.00146.x>
- Lenth, R., H. Singmann, J. Love, P. Buerkner, and M. J. R. Herve. 2018. Emmeans: Estimated marginal means, aka least-squares means. Available at: <https://github.com/rvleth/emmeans>.
- Litrico, I., and C. Violle. 2015. Diversity in Plant Breeding A New Conceptual Framework. *Trends in Plant Science* **20**:604-613. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.07.007>
- Lynch, J. M. 1994. VIEWPOINT The rhizosphere - form and function. *Applied Soil Ecology* **1**:193-198. [https://doi.org/10.1016/0929-1393\(94\)90010-8](https://doi.org/10.1016/0929-1393(94)90010-8)
- Mariotte, P., Z. Mehrabi, T. M. Bezemer, G. B. De Deyn, A. Kulmatiski, B. Drigo, G. F. Veen, M. G. A. van der Heijden, and P. Kardol. 2018. Plant-Soil Feedback: Bridging Natural and Agricultural Sciences. *Trends in Ecology & Evolution* **33**:129-142. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2017.11.005>
- McMurdie, P. J., and S. Holmes. 2013. phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *Plos One* **8**:11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
- Mitter, B., N. Pfaffenbichler, and A. Sessitsch. 2016. Plant-microbe partnerships in 2020. *Microbial Biotechnology* **9**:635-640. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12382>
- Moreau, D., R. D. Bardgett, R. D. Finlay, D. L. Jones, and L. Philippot. 2019. A plant perspective on nitrogen cycling in the rhizosphere. *Functional Ecology* **33**:540-552. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13303>
- Morel, J. L., L. Habib, S. Plantureux, and A. Guckert. 1991. Influence of maize root mucilage on soil aggregate stability. *Plant and Soil* **136**:111-119. <https://doi.org/10.1007/bf02465226>
- Mougel, C., P. Offre, L. Ranjard, T. Corberand, E. Gamalero, C. Robin, and P. Lemanceau. 2006. Dynamic of the genetic structure of bacterial and fungal communities at different developmental stages of *Medicago truncatula* Gaertn. cv. Jemalong line J5. *New Phytologist* **170**:165-175. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01650.x>
- Mukhopadhyay, S., R. E. Masto, A. Cerda, and L. C. Ram. 2016. Rhizosphere soil indicators for carbon sequestration in a reclaimed coal mine spoil. *Catena* **141**:100-108. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2016.02.023>
- Müller, F., B. Burkhard, M. Kandziora, C.-G. Schimming, and W. Windhorst. 2020. Ecological Indicators: Ecosystem Health. Pages 207-227 in B. D. Fath, S. E. Jorgensen, and M. Cole, editors. *Managing Biological and Ecological Systems*. CRC Press, Boca Raton. <https://doi.org/10.1201/9780429346170>
- Nannipieri, P., L. Giagnoni, L. Landi, and G. Renella. 2011. Role of Phosphatase Enzymes in Soil. Pages 215-243 in E. K. Bunemann, A. Oberson, and E. Frossard, editors. *Phosphorus in Action: Biological Processes in Soil Phosphorus Cycling*. Springer-Verlag Berlin, Berlin. https://doi.org/10.1007/978-3-642-15271-9_9
- Neumann, G., T. S. George, and C. Plassard. 2009. Strategies and methods for studying the rhizosphere—the plant science toolbox. *Plant and Soil* **321**:431-456. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-9953-9>
- Nguyen, C. 2009. Rhizodeposition of Organic C by Plants: Mechanisms and Controls. in N. M. Lichtfouse E, Debaeke P, Véronique S, Alberola C editor. *Sustainable Agriculture*. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-90-481-2666-8_9

- Oksanen, J., F. G. Blanchet, M. Friendly, R. Kindt, P. Legendre, D. McGlenn, P. R. Minchin, R. O'Hara, G. Simpson, and P. Solymos. 2019. *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.5–6. Available at: <https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/index.html>.
- Ourry, M., L. Lebreton, V. Chaminade, A. Y. Guillerm-Erckelboudt, M. Herve, J. Linglin, N. Marnet, A. Ourry, C. Paty, D. Poinsot, A. M. Cortesero, and C. Mougél. 2018. Influence of Belowground Herbivory on the Dynamics of Root and Rhizosphere Microbial Communities. *Frontiers in Ecology and Evolution* **6**:21. <https://doi.org/10.3389/fevo.2018.00091>
- Ourry, M., V. Lopez, M. Herve, L. Lebreton, C. Mougél, Y. Outreman, D. Poinsot, and A. M. Cortesero. 2020. Long-lasting effects of antibiotics on bacterial communities of adult flies. *Fems Microbiology Ecology* **96**:16. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa028>
- Pellegrino, E., M. Opik, E. Bonari, and L. Ercoli. 2015. Responses of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi: A meta-analysis of field studies from 1975 to 2013. *Soil Biology & Biochemistry* **84**:210-217. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.02.020>
- Peralta, A. L., Y. M. Sun, M. D. McDaniel, and J. T. Lennon. 2018. Crop rotational diversity increases disease suppressive capacity of soil microbiomes. *Ecosphere* **9**:16. <https://doi.org/10.1002/ecs2.2235>
- Philippot, L., J. M. Raaijmakers, P. Lemanceau, and W. H. van der Putten. 2013. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology* **11**:789-799. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3109>
- Qian, P., and J. J. Schoenau. 2002. Practical applications of ion exchange resins in agricultural and environmental soil research. *Canadian Journal of Soil Science* **82**:9-21. <https://doi.org/10.4141/s00-091>
- Qu, Q., Z. Y. Zhang, W. Peijnenburg, W. Y. Liu, T. Lu, B. L. Hu, J. M. Chen, J. Chen, Z. F. Lin, and H. F. Qian. 2020. Rhizosphere Microbiome Assembly and Its Impact on Plant Growth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **68**:5024-5038. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00073>
- R Development Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. Pages Retrieved from <http://www.R-project.org>. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. .
- Reinhold-Hurek, B., W. Büniger, C. S. Burbano, M. Sabale, and T. Hurek. 2015. Roots Shaping Their Microbiome: Global Hotspots for Microbial Activity. *Annual Review of Phytopathology* **53**:403-424. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102342>
- Renard, D., and D. Tilman. 2019. National food production stabilized by crop diversity. *Nature* **571**:257-260. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1316-y>
- Richardson, A. E., J. M. Barea, A. M. McNeill, and C. Prigent-Combaret. 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil* **321**:305-339. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-9895-2>
- Rovira, A. D. 1969. Plant root exudates. *Botanical Review* **35**:35-57. <https://doi.org/10.1007/bf02859887>
- Ryan, M. H., and J. H. Graham. 2018. Little evidence that farmers should consider abundance or diversity of arbuscular mycorrhizal fungi when managing crops. *New Phytologist* **220**:1092-1107. <https://doi.org/10.1111/nph.15308>
- Ryan, P. R., Y. Dessaux, L. S. Thomashow, and D. M. Weller. 2009. Rhizosphere engineering and management for sustainable agriculture. *Plant and Soil* **321**:363-383. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0001-6>
- Sampoux, J. P., H. Giraud, and I. Litrico. 2020. Which Recurrent Selection Scheme To Improve Mixtures of Crop Species? Theoretical Expectations. *G3-Genes Genomes Genetics* **10**:89-107. <https://doi.org/10.1534/g3.119.400809>
- Shaw, A. N., and J. L. DeForest. 2013. The cycling of readily available phosphorus in response to elevated phosphate in acidic temperate deciduous forests. *Applied Soil Ecology* **63**:88-93. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.09.008>
- Shi, S. J., L. Condrón, S. Larsen, A. E. Richardson, E. Jones, J. Jiao, M. O'Callaghan, and A. Stewart. 2011. In situ sampling of low molecular weight organic anions from rhizosphere of radiata pine (*Pinus*

- radiata) grown in a rhizotron system. *Environmental and Experimental Botany* **70**:131-142. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.08.010>
- Smalla, K., G. Wieland, A. Buchner, A. Zock, J. Parzy, S. Kaiser, N. Roskot, H. Heuer, and G. Berg. 2001. Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: Plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed. *Applied and Environmental Microbiology* **67**:4742-4751. <https://doi.org/10.1128/aem.67.10.4742-4751.2001>
- Spohn, M., A. Carminati, and Y. Kuzyakov. 2013. Soil zymography - A novel in situ method for mapping distribution of enzyme activity in soil. *Soil Biology & Biochemistry* **58**:275-280. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.12.004>
- Tiemann, L. K., A. S. Grandy, E. E. Atkinson, E. Marin-Spiotta, and M. D. McDaniel. 2015. Crop rotational diversity enhances belowground communities and functions in an agroecosystem. *Ecology Letters* **18**:761-771. <https://doi.org/10.1111/ele.12453>
- Toffolini, Q., M. H. Jeuffroy, and L. Prost. 2016. Indicators used by farmers to design agricultural systems: a survey. *Agronomy for Sustainable Development* **36**:14. <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0340-z>
- van der Putten, W. H., M. A. Bradford, E. P. Brinkman, T. F. J. van de Voorde, and G. F. Veen. 2016. Where, when and how plant-soil feedback matters in a changing world. *Functional Ecology* **30**:1109-1121. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12657>
- van Elsas, J. D., and F. G. H. Boersma. 2011. A review of molecular methods to study the microbiota of soil and the mycosphere. *European Journal of Soil Biology* **47**:77-87. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2010.11.010>
- Wander, M. M., L. J. Cihacek, M. Coyne, R. A. Drijber, J. M. Grossman, J. L. M. Gutknecht, W. R. Horwath, S. Jagadamma, D. C. Olk, M. Ruark, S. S. Snapp, L. K. Tiemann, R. Weil, and R. F. Turco. 2019. Developments in Agricultural Soil Quality and Health: Reflections by the Research Committee on Soil Organic Matter Management. *Frontiers in Environmental Science* **7**:9. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2019.00109>
- Wang, Z. Y., J. M. Kelly, and J. L. Kovar. 2004. In situ dynamics of phosphorus in the rhizosphere solution of five species. *Journal of Environmental Quality* **33**:1387-1392. <https://doi.org/10.2134/jeq2004.1387>
- Weisberg, S., and J. Fox. 2011. *An R Companion to Applied Regression*. Sage publications. <https://us.sagepub.com/en-us/nam/an-r-companion-to-applied-regression/book246125>
- Welch, B. L. 1947. The generalization of "Student's" problem when several different population variances are involved. *Biometrika* **34**:28-35. <https://doi.org/10.1093/biomet/34.1-2.28> %
Biometrika
- Wickham, H. 2016. *ggplot: Elegant Graphics for Data Analysis* Springer-Verlag New York. <https://ggplot2-book.org/>
- Zhalnina, K., K. B. Louie, Z. Hao, N. Mansoori, U. N. da Rocha, S. J. Shi, H. J. Cho, U. Karaoz, D. Loque, B. P. Bowen, M. K. Firestone, T. R. Northen, and E. L. Brodie. 2018. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. *Nature Microbiology* **3**:470-480. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0129-3>
- Ziadi, N., A. N. Cambouris, and M. C. Nolin. 2006. Anionic exchange membranes as a soil test for nitrogen availability. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **37**:2411-2422. <https://doi.org/10.1080/00103620600819958>
- Zimmerman, D., and B. Zumbo. 1993. Rank transformations and power of the Student t test and Welch t test for nonnormal populations with unequal variances. *Canadian Journal of Experimental Psychology/Revue canadienne de psychologie expérimentale* **47**:523-539. <https://doi.org/10.1037/h0078850>

7. Online Resources

Online Resource 1

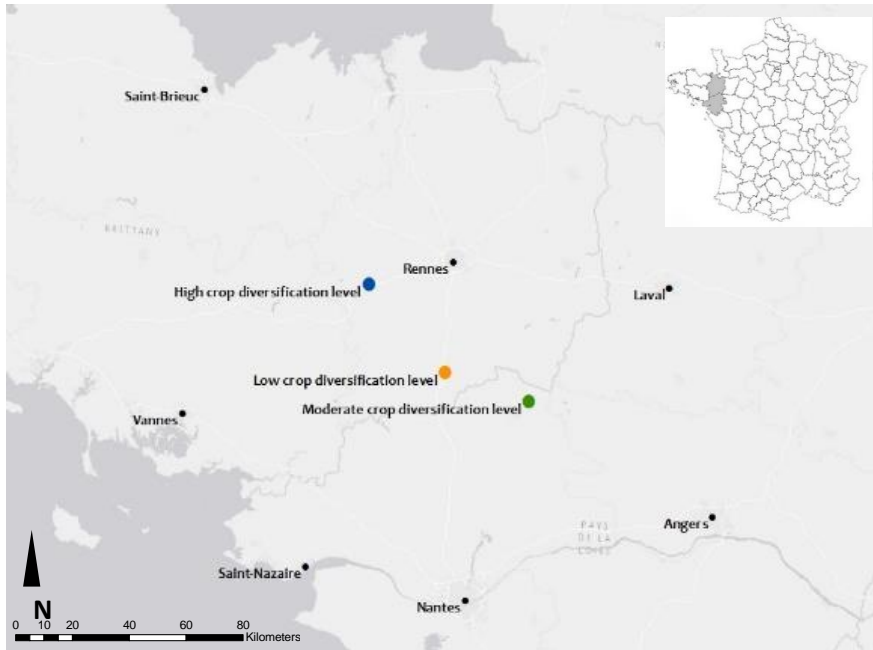


Fig. 4.S1. Geographical position of the 3 study plots (latitude and longitude of the High crop diversification level : 47°44'42.2"N 1°17'52.6"W; Moderate crop diversification level : 48°01'57.6"N 2°01'24.7"W; Low crop diversification level : 47°48'45.4"N, 1°41'05.3"W) in Brittany, France.

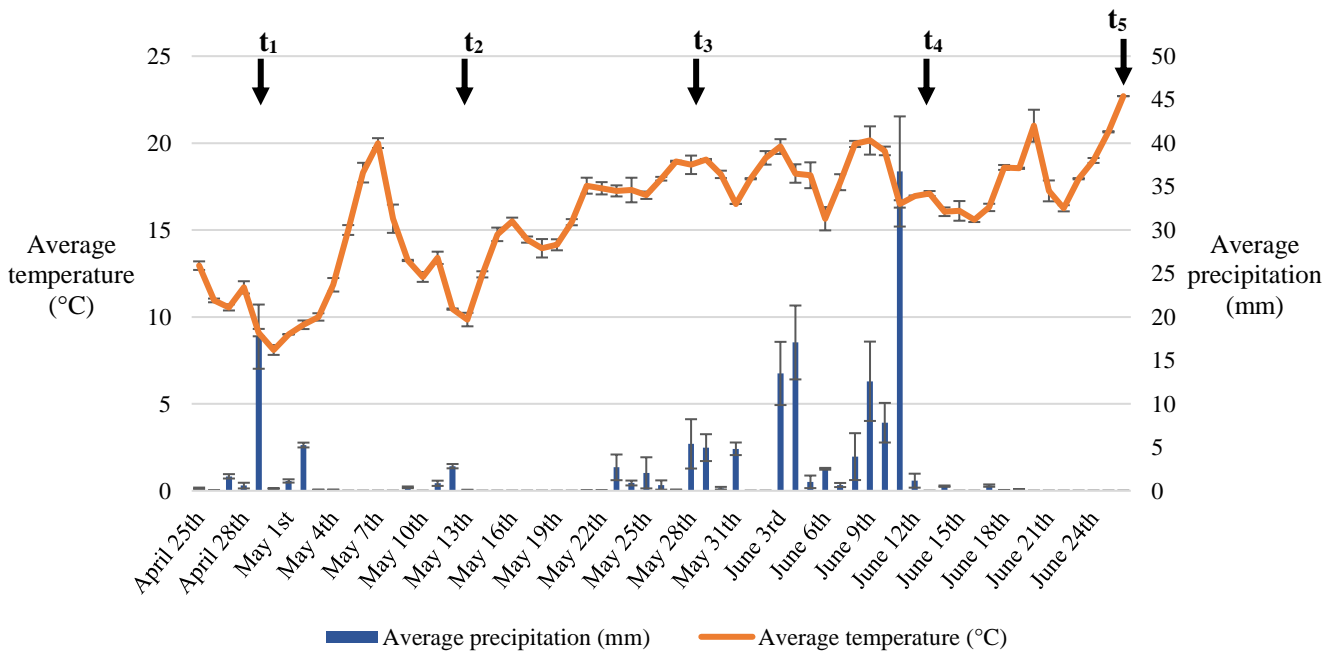


Fig. 4.S2. Averages precipitation and temperatures calculated on a daily basis according to the data observed during the experiment conducted in 2018 by the 3 nearest weather stations from the 3 study plots. Arrows correspond to sampling dates (May 2nd = t₁; May 14th = t₂; May 28th = t₃; June 11th = t₄; June 25th = t₅). Bars indicate standard errors (N=3).

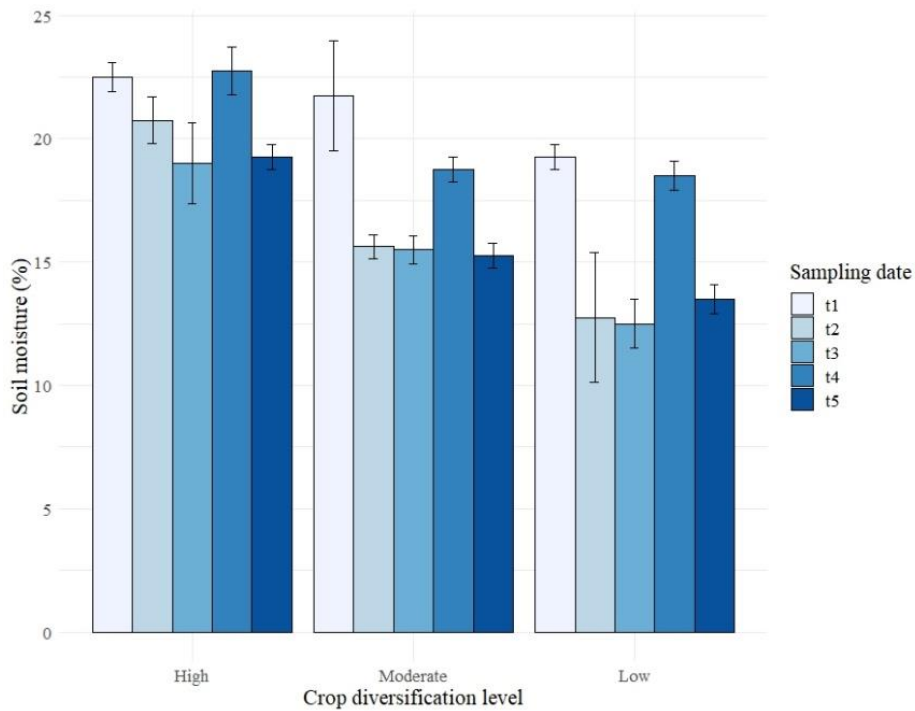


Fig. 4.S3. Average soil moisture (%) measured on the 3 study plots for each crop diversification level (High, Moderate and Low) and each date of sampling (May 2nd = t₁; May 14th = t₂; May 28th = t₃; June 11th = t₄; June 25th = t₅). Soil moisture was calculated as a percentage indicating the amount of water (g) per gram of dry soil. Bars indicate standard errors.

Table 4.S1. Spearman correlation coefficients calculated between soil moisture measured in bulk soil (Bulk soil moisture) and various Rhizosphere Effect Indicator calculated with nitrate (REI_NO3), phosphate fluxes (REI_PO43), activity of acidic phosphatase (REI_PAC), alkaline phosphatase (REI_PAK), β -glucosidase (REI_GLU) or arylamidase (REI_ARA). A Bonferroni correction has been used to adjust P-values for multiple comparison.

Indicator	ρ	Adj. P-value
REI_NO3	0.14	1.00
REI_PO43	-0.36	1.00
REI_PAC	-0.48	0.78
REI_PAK	-0.59	0.09
REI_GLU	-0.53	0.21
REI_ARA	-0.63	0.09

Online Resource 2

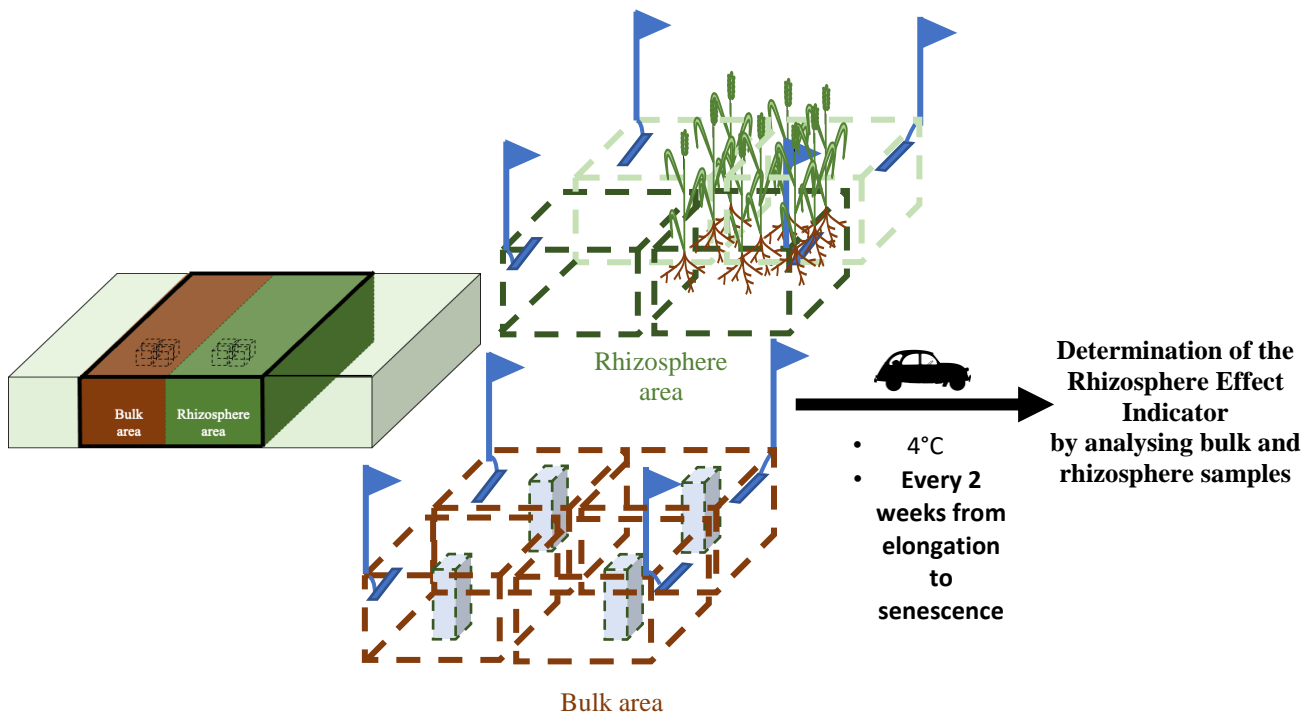


Fig. 4.S1. The sampling design used in the study. In a 70 m² subplot defined in each plot (the main rectangle) for each crop-diversification level (High, Moderate or Low). In this area, two zones (brown : hand weeded soil without plants considered as bulk soil area, green : soil with plants considered as rhizosphere area) are determined for sampling. Soil samples were collected at each sampling date in the bulk and rhizosphere areas. Four soil blocks were delimited with a spade before soil sampling in the two zones (brown and green in the scheme). Within each block of each compartment, an anion exchange membrane (blue) was inserted. After incubation, bulk and rhizosphere soils were collected. Bulk soils were collected from 2-12 cm depth using an auger. Rhizosphere samples were collected from others blocks after collecting soils from adhering roots after several shakings. All soil samples were conveyed into a 4°C hand cooler from fields to laboratory.

Online Resource 3

Table 4.S1. Mean and standard deviation (SD) of the raw soil data used to calculate rhizosphere effect indicators. Fluxes of nitrate ($N-NO_3^-$) and phosphate ($P-PO_4^{3-}$) (in $\mu g \cdot day^{-1}$) measured in bulk soil (BS) or rhizosphere soil (RS) of each crop-diversification level (High, Moderate and Low) on each sampling date (t_1, t_2, t_3, t_4 and t_5). $N=4$ replicates per soil compartment, per crop-diversification level and per sampling date.

Crop-diversification level		High					Moderate					Low					
Variable	Compartment	Sampling date	t_1	t_2	t_3	t_4	t_5	t_1	t_2	t_3	t_4	t_5	t_1	t_2	t_3	t_4	t_5
		$N-NO_3^-$ flux ($\mu g \cdot day^{-1}$)	BS	Mean	196.88	217.74	387.92	312.50	116.95	262.08	166.55	360.86	134.66	68.11	103.99	201.70	163.17
SD	132.11			97.22	23.28	45.43	20.49	83.05	67.23	51.28	65.45	12.35	21.21	30.24	94.91	96.87	104.17
RS	Mean		42.11	29.72	45.88	81.03	86.20	82.11	30.71	20.13	17.03	22.34	4.93	67.44	26.05	42.66	22.01
	SD		13.77	15.25	12.04	27.75	25.96	32.37	23.88	10.85	9.14	18.16	1.91	68.47	20.95	14.06	5.71
$P-PO_4^{3-}$ flux ($\mu g \cdot day^{-1}$)	BS	Mean	0.21	0.07	0.09	1.65	0.19	0.29	0.10	0.07	2.15	0.53	0.39	0.05	0.09	0.10	0.06
		SD	0.11	0.01	0.06	0.34	0.06	0.19	0.05	0.02	0.79	0.22	0.16	0.03	0.01	0.05	0.02
	RS	Mean	1.33	2.53	2.80	5.16	2.83	0.90	2.26	3.04	5.84	3.56	1.54	2.11	2.08	2.70	1.60
		SD	0.48	1.65	1.01	1.75	0.58	0.51	3.21	2.42	1.19	0.93	0.34	1.69	1.95	1.71	1.27

Chapitre 4

Table 4.S2. Mean and standard deviation (SD) of the raw soil data used to calculate rhizosphere effect indicators. Activities of acid phosphatase (PAC), alkaline phosphatase (PAK), β -glucosidase (GLU) and arylamidase (ARA) (in mU g⁻¹ of dried soil) measured in bulk soil (BS) or rhizosphere soil (RS) for each crop-diversification level (High, Moderate and Low) on each sampling date (t₁, t₂, t₃, t₄ and t₅). N=4 replicates per soil compartment, per crop-diversification level and per sampling date.

Crop-diversification level		High					Moderate					Low					
Variable	Compartment	Sampling															
		date	t ₁	t ₂	t ₃	t ₄	t ₅	t ₁	t ₂	t ₃	t ₄	t ₅	t ₁	t ₂	t ₃	t ₄	t ₅
PAC activity (mU g ⁻¹ of dried soil)	BS	Mean	76.10	85.80	73.26	49.72	62.11	53.96	53.12	53.20	41.22	45.79	51.83	50.37	55.19	42.71	45.77
		SD	5.61	5.14	14.91	4.44	7.58	6.18	1.83	2.48	1.08	1.99	3.62	4.54	3.25	2.32	6.15
	RS	Mean	99.49	93.58	98.76	76.55	91.54	63.40	71.14	56.83	46.66	65.35	53.95	54.47	54.98	42.33	46.97
		SD	6.87	3.33	10.27	5.72	7.56	4.17	7.11	1.83	1.45	5.14	6.56	3.21	3.38	2.28	2.47
PAK activity (mU g ⁻¹ of dried soil)	BS	Mean	69.08	19.06	17.23	16.31	18.71	48.42	14.26	17.29	17.72	22.64	47.13	15.15	15.40	17.15	19.95
		SD	4.89	1.51	5.95	2.24	1.36	4.03	1.55	1.81	1.50	1.92	2.38	0.89	1.66	1.18	2.87
	RS	Mean	111.76	25.85	20.11	24.15	21.54	67.96	20.03	21.45	26.27	26.14	45.26	15.18	13.57	17.27	16.22
		SD	8.59	2.68	2.39	4.20	1.96	6.81	2.02	1.11	2.45	3.38	2.77	0.67	1.39	2.03	2.33
GLU activity (mU g ⁻¹ of dried soil)	BS	Mean	16.37	10.71	11.90	9.96	9.43	13.24	9.78	10.52	7.02	9.98	9.26	6.89	9.21	8.35	7.40
		SD	0.89	0.91	3.83	1.30	1.13	0.75	2.11	2.09	0.68	1.33	1.01	1.50	1.48	0.70	1.49
	RS	Mean	25.40	13.40	15.28	19.70	16.66	24.24	17.70	17.34	16.03	23.17	9.39	7.26	8.92	9.09	7.09
		SD	2.15	1.22	1.88	2.58	2.54	1.96	1.81	0.56	2.53	3.33	1.03	0.44	1.05	0.49	1.05
ARA activity (mU g ⁻¹ of dried soil)	BS	Mean	4.74	4.31	5.85	6.26	4.58	5.81	4.25	5.50	5.29	3.70	4.08	3.20	4.38	6.03	3.40
		SD	0.47	0.43	1.43	0.76	0.27	0.21	0.67	0.65	0.46	0.28	0.11	0.16	0.46	0.28	0.32
	RS	Mean	8.94	5.94	7.48	10.50	6.45	7.62	5.99	7.31	9.79	5.92	4.20	3.53	4.09	6.15	3.22
		SD	0.82	0.14	1.18	0.95	0.25	0.28	0.38	0.76	1.53	0.49	0.44	0.18	0.43	0.54	0.40

Online Resource 4

Table 4.S1. Effect of the crop-diversification level, soil compartment and their interaction on bacterial or fungal alpha diversity indices.

Taxon	Index (Y)	Diversification	Soil compartment	Diversification × Soil compartment
Bacteria	Number of ASVs observed	F _{2,17} =9.413; P=0.003**	F _{1,17} =2.736; P=0.132	F _{2,17} =0.662; P=0.528
Bacteria	Shannon	F _{2,17} =8.960; P=0.003**	F _{1,17} =2.667; P=0.132	F _{2,17} =0.830; P=0.528
Bacteria	Pielou	F _{2,17} =8.373; P=0.003**	F _{1,17} =2.500; P=0.132	F _{2,17} =0.931; P=0.528
Fungi	Number of ASVs observed	F _{2,18} =11.641; P=0.003**	F _{1,18} =0.621; P=0.441	F _{2,18} =0.151; P=0.861
Fungi	Shannon	F _{2,18} =8.028; P=0.005**	F _{1,18} =2.446; P=0.202	F _{2,18} =0.296; P=0.861
Fungi	Pielou	F _{2,18} =5.204; P=0.016*	F _{1,18} =2.848; P=0.202	F _{2,18} =0.398; P=0.861

Model : $lm(Y \sim \text{Diversification} \times \text{Soil compartment})$, F-test as Type II analysis of variance: FX₁,X₂, with X₁ as factor degrees of freedom and X₂ as residual degrees of freedom. *: P < 0.05, **: P < 0.01.

Table 4.S2. Effect of the crop-diversification level, soil compartment and their interaction on bacterial or fungal beta diversity indices (i.e. community structure).

Taxon	Information	Diversification	Soil compartment	Diversification × Soil compartment
Bacteria	Variance (%)	35.49	10.07	—
Bacteria	Test results	F=10.34; P=0.001**	F=6.90; P=0.001**	F=2.89; P=0.002**
Fungi	Variance	52.28	5.66	—
Fungi	Test results	F=19.34; P=0.001**	F=6.69; P=0.001**	F=2.58; P=0.006**

Model: $dbbrda(\text{Bray Curtis distance} \sim \text{Diversification} \times \text{Soil compartment})$, a Type II permutation F-test for constrained multivariate analyses was performed. **: P < 0.01.

Chapitre 5

Evaluation de l'effet des pratiques agricoles de diversification des cultures et de travail du sol sur l'effet rhizosphère en contexte de polyculture-élevage intensif

Ce chapitre correspond à un article **en voie de soumission** dans la revue *Ecological Applications* intitulé : **The plant -soil interplay of Nature-based Solutions : insight of a crop diversification gradient**

Ces résultats ont également été présentés au XVII congrès de la Société Européenne d'Agronomie (Potsdam Allemagne 2022 : « How to develop sustainable cropping systems valuing the rhizosphere effect ? » Communication orale)

Dans le cadre de la thèse, l'objectif de ce chapitre était d'évaluer l'effet des pratiques agricoles de diversification des cultures et de travail du sol sur l'intensité de l'effet rhizosphère relatif aux cycles biogéochimiques de l'azote, du phosphore et du carbone dans les sols au stade de développement « épiaison » du blé tendre (*Triticum aestivum*). L'enjeu est d'identifier les pratiques agricoles permettant de maximiser la capacité des plantes à modifier le fonctionnement de la rhizosphère.

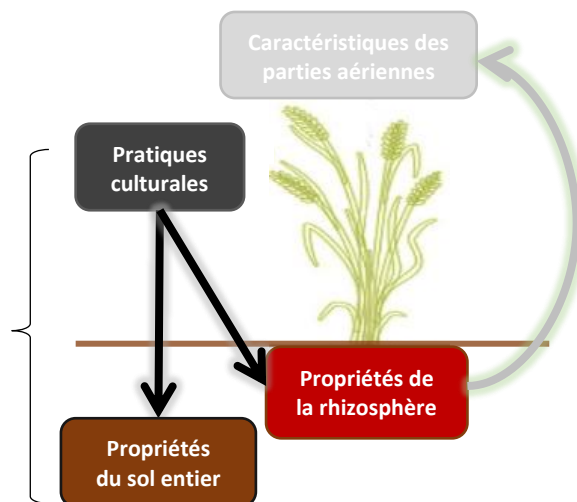
Ainsi, j'ai développé un design expérimental permettant de comparer l'effet rhizosphère sur six parcelles agricoles en contexte de polyculture-élevage intensif. Ces parcelles ont été discriminées selon le niveau de diversification des cultures et le mode de gestion du sol. L'effet rhizosphère a été étudié grâce aux activités enzymatiques qui se sont révélées particulièrement adaptées pour caractériser l'effet rhizosphère dans le chapitre précédent. Les observations du **jeu de données 2** sont utilisées dans cette partie.

Sous-question de recherche 1

La plante modifie-t-elle les propriétés du sol dans la rhizosphère induisant un fonctionnement différent du sol non adjacent aux racines et ce, quelles que soient les pratiques agricoles ?

[Jeu de données 2](#)

→ Hypothèses 1 & 2



Keywords

Plant diversity ; plant-soil feedback ; rhizosphere ; nutrient ; agroecology

Abstract

Nature-based solutions have the potential to manage agroecosystems in a sustainable way to address current agricultural challenges. In particular, the soil : plant interplay of nature-based solutions has to be tuned with agricultural practices to magnify crop nutrition and health by biological interactions of the rhizosphere. Recent studies providing insights in rhizosphere functioning have highlighted the need to evaluate agricultural practices as soil microbiome is essential but affected by crop management. In the present study, we characterized the rhizosphere effect of winter wheat (*Triticum aestivum* var. Absalon) on farm fields conducting a combination of practices of crop diversification (High or Low) and soil tillage (Conventional or Reduced). Rhizosphere effect was determined from enzymatic activities involved in carbon (β -glucosidase), nitrogen (arylamidase) and phosphorus (acid phosphatase) cycles. We show that plant-induced processes significantly increased enzymatic activities in the rhizosphere compared to bulk soil. Crop diversification and reduced tillage showed synergistic effects on nutrient cycling in the rhizosphere, while ploughing and low crop diversity altered the rhizosphere effect. These results highlight the relevance of nature-based solutions on arable land for the promotion of nutrient cycling in the rhizosphere. An integrated rhizosphere effect summarizing the three enzymes involved in soil fertility was designed to evaluate cropping systems. This tool could be helpful to a broad audience as extension services and scientists to promote developments based on the soil-plant interplay for sustainable management of ecosystems.

1. Introduction

Nature-based solutions, as agroecological systems, are advocated as ways to address sustainability challenges ([Chausson et al. 2020](#)) but require an holistic understanding of ecosystem functioning to be managed under climate change ([Keesstra et al. 2018a](#), [Keesstra et al. 2018b](#)). A nexus of our understanding in agroecological systems are the plant-soil feedbacks ([Ehrenfeld et al. 2005](#)), but climate change is likely to have a strong effect on plant community, physiology and phenology, and in turn feedbacks effects on soil microbial mediated processes. In addition, extreme weather events induced by climate change, such as flood, drought or heat waves, will also interfere with presumed plant-soil feedback affecting both their sign and magnitude ([Pugnaire et al. 2019](#), [Hassan et al. 2022](#)). The plant-soil feedbacks are occurring under two pathways: the litter (aboveground, indirect) and the rhizosphere (belowground, direct) pathway ([Veen et al. 2019](#)). The rhizosphere pathway occurring in the small soil volume in root vicinities ([Chung and Rudgers 2016](#), [Hu et al. 2018](#), [Kong et al. 2019](#)) gained attention due to its contribution to soil microbial resilience after extreme weather events ([de Oliveira et al. 2020](#)). The rhizosphere effect is related to modifications of soil properties such as microbial diversity ([Munoz-Ucros et al. 2021](#), [Saghai et al. 2022](#)), extracellular enzymes activity ([Dotaniya and Meena 2015](#), [Reinhold-Hurek et al. 2015](#)) or soil nutrient availability and pH ([Hinsinger et al. 2003](#), [Dotaniya and Meena 2015](#)). Recoupling plant to microbial communities in order to promote positive rhizosphere effect, is largely dependent on the patterns of rhizodeposition ([Paterson 2003](#), [Preece and Peñuelas 2020](#)). The rhizodeposition patterns are controlled by plant physiology and phenology both driven by climate drivers such as temperature or water availability ([Hassan et al. 2022](#)). In addition, plant diversity may influence rhizosphere effect due to carbon release by plant differing along the Leaf Economy spectrum ([Han et al. 2020](#), [Henneron et al. 2020a](#), [Henneron et al. 2020b](#)). In particular, for legumes, considered as a diversification lever in cropping systems, the rhizodeposition of labile carbon sources promotes nitrogen ([Kanté et al. 2021](#)) and phosphorus ([Hinsinger et al. 2011](#)) bioavailability when intercropped with cereals. Specific, positive rhizosphere plant-soil feedbacks are then already managed by agronomists through crop mixtures to reduce drastically synthetic inputs. Moreover, rhizosphere effect has been related to overyielding in these plurispecific cropping systems ([Hinsinger et al. 2011](#), [Schwerdtner and Spohn 2022](#)) through facilitation or complementary interactions within the rhizosphere. However, rhizosphere effect is faded by soil management practices that may alter initial soil microbiome ([Bünemann et al. 2006](#), [Nelson and Spaner 2010](#), [Delgado-Baquerizo et al. 2020](#)), or when resources are too important ([Boudsocq et al. 2022](#), [Zhu et al. 2022](#)). The compositional transition from bulk soil to rhizosphere communities have been investigated ([Edwards et al. 2019](#)), yet quantitative contribution in terms of rhizosphere effect remained necessary for implementing nature-based solutions. To support stakeholders to modify their practices towards nature-based solutions

([Geertsema et al. 2016](#)), actionable knowledge based on rhizosphere effect ([Mach et al. 2020](#)) is required. In such perspective, the soil enzymes have the potential to reveal the rhizosphere effect. Indeed, due to their ubiquity and responsiveness to changes, soil enzymes are already used as indicators to evaluate impacts of agricultural practices ([Bunemann et al. 2018](#)) on biogeochemical cycles ([Caldwell 2005](#)), ecosystem stability face to extreme weather events ([Mooshammer et al. 2017](#)) or carbon stocks ([Henneron et al. 2020a](#)). Moreover, crop diversification has significant effects on soil enzymes ([Gentsch et al. 2020](#)) and soil microbiome ([Wang et al. 2022](#)).

In our study, we hypothesized that rhizosphere effect could be a game changer to develop agroecological systems from conventional ones. Accordingly, the aim of our study is to determine the range of the rhizosphere effect in intensive livestock cropping systems differing by the complexity of the crop diversification pattern but similar by their high inputs loads. Three enzymes, which correspond to key processes of soil organic matter turnover and nutrient cycling involved in carbon, nitrogen and phosphorus biogeochemical cycles (β -glucosidase, arylamidase and acid phosphatase) were measured in each rhizosphere and bulk soils compartments to estimate the rhizosphere effect. In a second step, we analysed (i) the influence of crop diversification as an example of nature-based solutions and (ii) the role of soil perturbation, herein tillage, on the rhizosphere effect.

2. Material and methods

2.1. Study sites and experimental design

Study sites (S1-S6) were selected on six farms (i.e. one field plot per farm) with similar soil properties (Table 5.1) and located in temperate oceanic climate of northwestern France. Crop diversification and soil tillage practices performed by the farmers were used to discriminate the six study sites. Crop diversification was assessed according to the crop diversity index ([Tiemann et al. 2015](#), [Mira et al. 2022](#)) integrating the temporal and spatial diversity of crops grown in the field (Equation 5.1).

$$CDI = \text{number of species} \times \frac{\text{number of species}}{6 \text{ years}}$$

Equation 5.1 : Crop Diversification Index (CDI).

The denominator corresponds to the duration of the longest rotation (study site S6). The crop diversity index was used to sort study sites into two groups: Low level (index < 2.66) and High level (index > 6) of diversification (Table 5.1). Each study site observed either Conventional tillage corresponding to plowing at 25 cm depth or Reduced tillage characterized by no plowing (Table 5.1). All studied farms were conducted in typical conventional cropping systems of Brittany region: maize was the pre-crop, the same elite wheat cultivar was used (Absalon), no organic fertilizers were added during wheat

development but synthetic fertilizers and fungicides were used (Table 5.1). No synthetic fertilizers and fungicides were applied at least six weeks before soil sampling.

Table 5.1 : Site description of farm plots located in Brittany, France.

Site	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Soil tillage	Conventional	Reduced	Reduced	Conventional	Conventional	Reduced
Rotation	wheat - IRG - maize - wheat	wheat - IRG - wheat - IRG - maize - wheat	Cover crop- maize - wheat	pea - wheat - barley - cover crop - maize - wheat	barley - rapeseed - wheat - cover crop - pea - cover crop - maize - wheat	rapeseed - wheat - HRG/red clover - pea/wheat/ vetch - maize - wheat
<u>Agricultural practices</u>						
Cover crop	-	-	phacelia/ clover	oat/phacelia	oat/phacelia	-
Crop diversity index	1.5	1.5	2.66	6	8.16	8.16
Crop diversification level	Low	Low	Low	High	High	High
<u>Wheat management</u>						
N fertilization (kg ha ⁻¹)	140	107	139	157	140	146
P fertilization (kg ha ⁻¹)	0	30	55	19	0	55
K fertilization (kg ha ⁻¹)	0	60	0	0	0	0
Yield (t ha ⁻¹)	8.8	7.4	8	7.6	8.3	7.8
<u>Soil properties</u>						
Texture	Loamy clay	Loamy clay	Loamy clay	Loamy clay	Loamy clay	Loamy clay
Soil density	1.29	1.28	1.36	1.35	1.13	1.34
SOM (%)	3.69	3.11	3.3	-	3.4	3.38
pH _{H2O}	6.47	6.77	6.16	6.62	6.47	6.97
P _{olsen} (g kg ⁻¹)	0.069	0.067	0.099	0.080	0.075	0.16
N _{total} (g kg ⁻¹)	2.29	1.89	-	-	1.9	1.88

Note : IRG = Italian Ryegrass ; HRG = Hybrid Ryegrass; SOM = Soil Organic Matter; CEC = Cation Exchange Capacity

2.2. Soil sampling

Soil enzymes activities were determined on both soil compartments: bulk and rhizosphere soils. Rhizosphere soils were sampled from study sites at heading development stage ([Lancashire et al. 1991](#)) by collecting soil that adhered to plant roots in a 3 m x 3 m sampling zone randomly identified. On each sampling zone, four soil blocks 25 cm x 25 cm x 12 cm were randomly selected to collect rhizosphere samples (i.e. four replicates per sampling site). After excavation in the field, soil blocks with wheat plants were placed in hand-held cooler (4°C) for transport to the laboratory. In the laboratory, plants were shaken vigorously to remove loose soil. Rhizosphere soils were carefully collected by selecting small aggregates (< 1 cm, corresponding to maximal root influence based on nutrient gradient basis ([Kuzyakov and Razavi 2019](#))) still adhering to wheat roots after shaking. A composite of rhizosphere from the plants present in the block was analyzed within 2 days for enzymes activities. Bulk soils were collected in order to determine maximal basal enzyme activity without plant influence. Accordingly, bulk soils were collected after wheat harvest that also prevent any effect of fungicides and fertilizer

application on soil enzyme activities after sowing. To obtain bulk soils, we used an auger (15 cm in depth, 5 cm in diameter) to extract a composite from ten points collected at 2–12 cm depth in the sampling zone located near soil blocks used for collecting rhizosphere soils, and the composites were gently air dried during 4 months. For both rhizosphere and bulk soils, remaining roots were hand-sorted in containers before enzymatic determination.

2.3. Determination of the enzymatic activities of bulk soils

Three enzymes were determined: arylamidase hydrolyzes the N terminal of peptides and amines and is considered as an index of organic Nitrogen (N) turnover ([Dodor and Tabatabai 2007](#)), acid phosphatase hydrolyzes organic Phosphorus (P) into phosphate anion directly available for plants ([Nannipieri et al. 2011](#)), and β -glucosidase which catalyzes the hydrolysis of β -d-glucopyranosides during the degradation of cellulose in the Carbon (C) cycle and provides sugars for the soil microbial communities ([Stott et al. 2010](#)). To determine optimal enzymes activities of bulk soils as maximum level of initial soil microbiome regardless root influence ([Bunemann et al. 2018](#)), air dried bulk soils were incubated at 80% of pF 2 in order to standardize samples between study sites ([Kirkham 2005](#), [Soltani et al. 2019](#)). For each study site, four bulk soil replicates of 150 g of air-dried soil were taken from the composite samples collected after harvest. Replicates were gently remoistened at 80% of the soil retention (-10 kPa which corresponds to pF 2) using a spray to reduce aggregates breakdown, and homogeneously mixed during a short period (6 hours) to prevent any microbial growth that may contribute to increase soil enzyme activity ([Thuriès et al. 2000](#)). Bulk soils were afterwards incubated for one week at 15°C (corresponding to the soil temperature observed at 10 cm depth during rhizosphere soil sampling) in airtight pots in presence of a water-filled container to prevent water evaporation from soil. At t_0 (after 6h remoistening) and t_7 , 50 g of soil were collected and analyzed for enzyme activities. At t_7 , a final soil water content was assessed for control.

2.4. Enzymatic activities analyses

Soil enzyme activities were measured within 48 h at the Biochem Env platform (INRAE, Versailles, France, [http:// www.biochemenv.fr/](http://www.biochemenv.fr/)). For each soil sample (rhizosphere or bulk soils), the analyses were carried out in three technical replicates by weighing 4 g of sieved soil ([Cheviron et al. 2021](#)) and mixing each one with 25 mL of water for β -glucosidase (GLU), 25 mL of 50 mM Tris base pH 7.5 for arylamidase (ARA) or 25 mL of 50 mM Tris HCl pH 5.5 for acid phosphatase (PAC). Soil suspensions were pipetted into 96-well microplates and maintained at 37°C. A specific substrate was added to the suspension according to the enzyme tested: 0.05 M 4-nitrophenylphosphate for 30 min for PAC, 0.05 4-nitrophenyl β -D-glucopyranoside for 1 h for GLU and 0.008 M of L-leucine b-naphtylamide for 2 h for ARA. For PAC and GLU, the reaction was stopped with 0.5 M CaCl₂ and 0.1 M Tris at pH 12. For ARA,

the reaction was stopped with pure ethanol, and the b-Naphtylamine formed was colored with 0.0035 M of DMCA (p-dimethylaminocinnamaldehyde). The microplates were centrifuged after reactions for 5 min at 2000 g, and absorbance of the reaction product was measured on a spectrophotometer (Genius SAFAS). The amounts of p-nitrophenol and b-Naphtylamine formed were estimated by absorbance at 405 nm and 540 nm, respectively. Enzyme activities represented the amount of product formed per unit of time and were expressed in mU g⁻¹ dry soil corresponding to nmole of product released per minute and per g of dry soil.

2.5. Statistical analyses

All statistical analyses were performed using R software ([R Development Core Team 2020](#)), version 4.0.3.

2.5.1. Identification of the rhizosphere effect

We evaluated the difference of functioning between rhizosphere and bulk soils based on linear mixed models (LMMs). For each enzymatic activity (arylamidase, β -glucosidase and acid phosphatase) considered as response variable, the mean difference of activity between the two soil compartments (rhizosphere or bulk soils) is considered as a factor. Two other factors, crop diversification level (High, Low) and soil tillage practice (Reduced, Conventional), were added as explanatory variables in the LMMs. Moreover, to account for the variability due to various sampling locations, the study site was also considered as a random explanatory factor in each LMM. Model parameters were estimated using the Restricted Maximum Likelihood algorithm implemented in the *lme4* package ([Bates et al. 2015](#)). We further used the *lmerTest* package ([Kuznetsova et al. 2017](#)) to test for the significance of marginal and interaction effects in the model.

Based on the estimated models, our “Rhizosphere Effect Indicator” (REI) was calculated as the difference in least-square means of enzymatic activity between rhizosphere and bulk soils (RS-BS) using the package *emmeans* ([Lenth et al. 2018](#)). We also calculated the rhizosphere effect given (i) each level of crop diversification, (ii) each soil tillage practice and (iii) each combination of a level of crop diversification and a tillage practice. The statistical significance of each rhizosphere effect was performed by testing the effect against zero which corresponds to the null hypothesis of an absence of rhizosphere effect. A significant rhizosphere effect (P value < 0.05) with a positive value indicates that the enzymatic activity is significantly higher in the rhizosphere than in the bulk soil. Rhizosphere effects calculated conditionally to different cropping practices, related to the level of crop diversification and soil tillage, were compared using the *emmeans* package. Pairwise comparisons (Tukey test), where the rhizosphere effect in a given cropping condition is compared to the one in another condition, were then relevant to identify farming practices promoting the rhizosphere effect.

2.5.2. Calculation of an integrated rhizosphere effect as a proxy for actionable knowledge

We calculated an integrated Rhizosphere Effect Indicator (integrated REI) combining the three enzymatic activities measured in order to provide an overview of the rhizosphere effect and facilitate interpretation of soil processes for decision-making purpose (Mira et al. 2022). This variable was used to characterize the biological processes related to biogeochemical cycles on each study site. Principal Component Analysis (PCA) was therefore performed on the three enzymatic activities (*FactoMineR* package (Le et al. 2008)) to define the synthetic variable as the coordinate of each soil sample on the first component of the PCA. We then used our above described LMM-based procedure to calculate and test rhizosphere effects on the obtained synthetic enzymatic activity.

3. Results

3.1. Intensity of the rhizosphere effect per soil enzymes

Observed means in both compartment rhizosphere or bulk soil from which the parameters of the LMMs are estimated are depicted in Figure 5.1. Mean enzymatic activities were generally higher in the rhizosphere than in bulk soils for the different treatments (Figure 5.1).

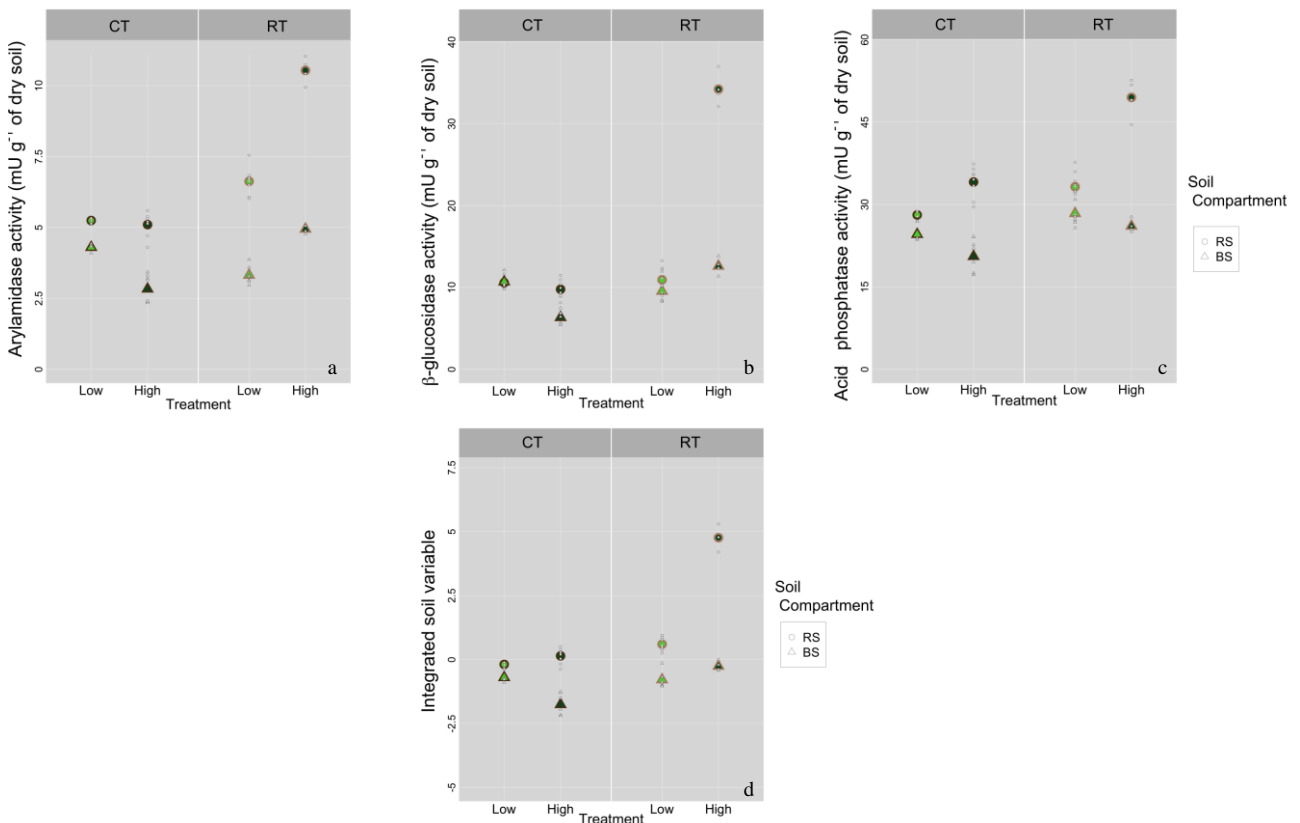


Figure 5.1 : Measured (lower symbols) and means (upper symbols) of arylamidase (a), β-glucosidase (b), acid phosphatase (c) activities in (d) in bulk soil (BS) and rhizosphere (RS) for each crop diversification level (Low and High) and each soil tillage practice (conventional CT and reduced RT). Integrated rhizosphere variable calculated is presented in panel (d).

The rhizosphere effect, as a relative difference between soil compartments, is calculated by the estimated means of the different models (Table 5.2). We compared the rhizosphere effect to the zero value thus indicating significant difference between rhizosphere and bulk soil (Table 5.2). The global rhizosphere effect was indeed positive and significantly different from 0 for all enzymes (Table 5.2). The models estimated a value of the indicator of 3.03 for arylamidase, 6.59 for β -glucosidase and 11.3 for acid phosphatase when the analysis compared only the observations by soil compartment. When the analysis is restricted to observations with a High level of diversification, the rhizosphere effect is significant for all enzymatic activities: 3.93 for arylamidase, 12.53 for the β -glucosidase and 18.48 for acid phosphatase (Table 5.2). However, for Low level of diversification, the rhizosphere effect is significant for arylamidase (2.13) and acid phosphatase activities (4.19) but not for β -glucosidase (0.64; Table 5.2). Indeed, for β -glucosidase the observed enzymatic activities show scarce differences between rhizosphere and bulk soils in the Low diversification treatment (Figure 5.1). Regarding the influence of soil tillage, the rhizosphere effect is significant for both soil management practices for all enzymatic activities: 4.45 and 1.61 for arylamidase, respectively in the Reduced and Conventional situations, 11.506 and 1.67 for β -glucosidase and 14.13 and 8.54 for acid phosphatase (Table 5.2). If the two experimental factors are combined to the rhizosphere effect determination (Diversification x Tillage), it is shown in Table 5.2 that the rhizosphere effect is significant for all enzymatic activities in case of high level of diversification associated to Reduced or Conventional tillage.

Table 5.2: Model estimates and P values of the rhizosphere effect and the rhizosphere effect given each level of crop diversification (High or Low), soil tillage practice (CT Conventional or RT Reduced) or each combination of a level of crop diversification and a tillage practice obtained by pairwise comparisons between means estimated by the models for arylamidase, β -glucosidase, acid phosphatase and the integrated rhizosphere variable. * stands for significant differences with associated P values, and grey colour for non-significant results.

Rhizosphere Effect Indicator	Arylamidase		β -glucosidase		Acid phosphatase		Integrated	
	estimate	P value	estimate	P value	estimate	P value	estimate	P value
Global	3.03	0.000*	6.59	0.000*	11.30	0.000*	2.21	0.000*
<u>Diversification</u>								
High	3.93	0.000*	12.53	0.000*	18.48	0.000*	3.46	0.000*
Low	2.13	0.000*	0.64	0.468	4.19	0.000*	0.95	0.000*
<u>Tillage</u>								
Reduced RT	4.45	0.000*	11.51	0.000*	14.13	0.000*	3.21	0.000*
Conventional CT	1.61	0.000*	1.67	0.003*	8.54	0.000*	1.21	0.000*
<u>Diversification x Tillage</u>								
High RT	5.59	0.000*	21.62	0.000*	23.42	0.000*	5.02	0.000*
High CT	2.27	0.000*	3.44	0.000*	13.54	0.000*	1.90	0.000*
Low RT	3.31	0.000*	1.39	0.136	4.84	0.002*	1.39	0.000*
Low CT	0.95	0.021*	-0.11	1.000	3.54	0.321	0.51	0.140

For arylamidase, the rhizosphere effect is also significant in case of Low level of diversification and Reduced tillage (3.31) or Conventional tillage (0.95). However, for β -glucosidase, rhizosphere effect is not significant for Low level of diversification and Reduced (1.39) or Conventional tillage (-0.11). For acid phosphatase, the rhizosphere effect is significant for Low level of diversification associated with Reduced tillage (4.48) but not with Conventional tillage (0.32). These results are fully consistent with the summary of the data displayed in Figure 5.1.

3.2. Combined crop diversification and tillage on rhizosphere effect

First, we compared the estimates of the rhizosphere effect between each treatment for the two factors tested separately. The results presented a significantly higher rhizosphere effect for the High diversification treatment over the Low diversification and for the Reduced tillage treatment over the Conventional treatment for the three enzymes tested (Table 5.3). The difference between the rhizosphere effect of High and Low diversification conditions reached 1.80, 11.9 and 14.29 for arylamidase, β -glucosidase and acid phosphatase, respectively (Table 5.3). Compared to Conventional tillage, reducing soil perturbation leads to an increase of the rhizosphere effect by 2.84, 9.84 and 5.59 for arylamidase, β -glucosidase and acid phosphatase, respectively (Table 5.3).

Table 5.3: model estimates and P values of pairwise comparisons of the rhizosphere effect between each level of crop diversification (High or Low), soil tillage practice (CT Conventional or RT Reduced) or each combination of a level of crop diversification and a tillage practice for arylamidase, β -glucosidase, acid phosphatase and the integrated rhizosphere variable. * stands for significant differences with associated p values, and grey colour for non-significant results.

Rhizosphere effect	Arylamidase		β -glucosidase		Acid phosphatase		Integrated	
	estimate	P value	estimate	P value	estimate	P value	estimate	P value
<u>Diversification</u>								
High - Low	1.80	0.000*	11.89	0.000*	14.29	0.000*	2.51	0.000*
<u>Compartment x Tillage</u>								
RT - CT	2.84	0.000*	9.84	0.000*	5.59	0.002*	2.00	0.000*
<u>Diversification x Tillage</u>								
High RT -Low RT	2.29	0.000*	20.23	0.000*	18.58	0.000*	3.64	0.000*
High RT - High CT	3.33	0.000*	18.18	0.000*	9.88	0.002*	3.12	0.000*
High RT - Low CT	4.65	0.000*	21.74	0.000*	19.89	0.000*	4.51	0.000*
Low RT - High CT	1.04	0.064	-2.05	0.472	-8.70	0.001*	-0.51	0.560
Low RT - Low CT	2.36	0.000*	1.50	0.991	1.31	1.000	0.88	0.075
High CT - Low CT	1.32	0.045*	3.56	0.041*	10.01	0.001*	1.39	0.000*

Then, we compared the estimates of the rhizosphere effect given each combination of a crop diversification level and a soil management practice. For the three enzymes, the High diversification-Reduced tillage treatment is shown to have a significantly higher rhizosphere effect than all other combinations of cropping practices (Table 5.3). The largest difference in rhizosphere effect is given by the comparison between High diversification-Reduced tillage and Low diversification-Conventional tillage treatments with estimated values of 4.65, 21.74 and 19.89 for arylamidase, β -glucosidase and acid phosphatase, respectively (Table 5.3). The decomposition of the rhizosphere effect given each treatment is visualized in Figure 5.2. According to this methodology, it is possible to note an increase or a decrease in rhizosphere effect given each practice tested. Starting from the global rhizosphere effect, the decomposition of the rhizosphere effect shows that increasing crop diversity had a positive effect on the rhizosphere effect for the three enzymes tested (Figure 5.2). In High crop diversification fields, the rhizosphere effect was significantly improved by reducing tillage compared to ploughing for the three enzymes (Figure 5.2). However, in Low crop diversification fields, the rhizosphere effect is only increased for arylamidase under Reduced tillage compared to Conventional tillage, while those differences are not significant for β -glucosidase and acid phosphatase (Figure 5.2).

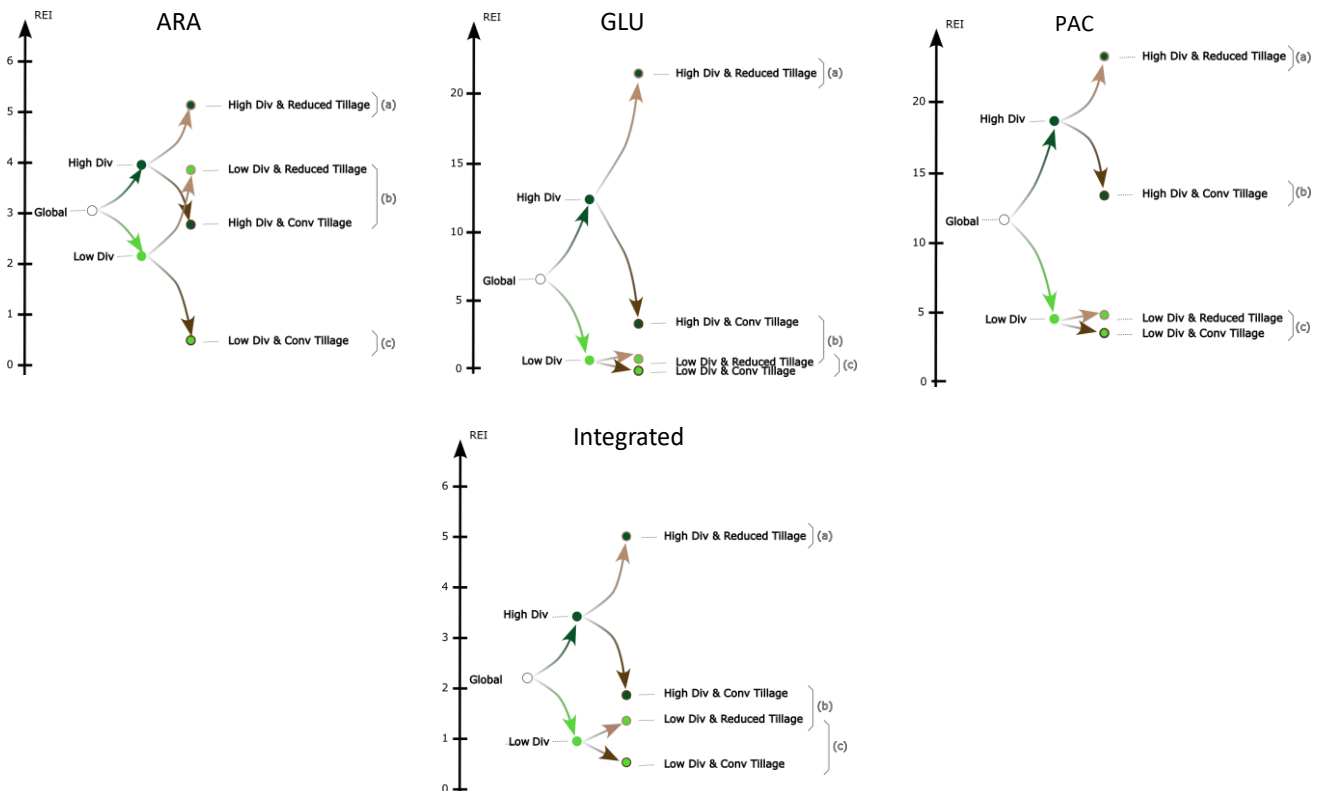


Figure 5.2 : Arylamidase (ARA), β -glucosidase (GLU), acid phosphatase (PHOS) and the integrated soil variable (Integrated) for each combination of crop diversification level (Low or High) and soil tillage practice (conventional CT or reduced RT). Different letters indicate significant pairwise comparisons between modalities.

Moreover, shifting soil tillage practices from Conventional to Reduced tillage practices on fields with Low crop diversification did not significantly improve the rhizosphere effect regarding β -glucosidase or acid phosphatase (Figure 5.2). Interestingly, for arylamidase activities another pattern was observed with a significant increase of the rhizosphere effect in Low diversification when Reduced tillage was implemented. Finally, in High diversification treatment, we noticed a significant decrease in rhizosphere effect when the soil management shifted from Reduced to Conventional tillage, especially for β -glucosidase (Figure 5.2), while for arylamidase and acid phosphatase, the rhizosphere effect reached an average value comparable to the global rhizosphere effect.

3.3. A proxy of rhizosphere effect for actionable knowledge

The integrated soil variable summarized the results obtained for individual enzymatic activities, with significant rhizosphere effects estimated by the models, except for the Low crop diversification and Conventional tillage condition (Table 5.2). These results were consistent with the results of individual enzymatic activities estimated. The rhizosphere effect of the integrated soil variable was significantly higher for the High diversification-Reduced tillage than for the three others combinations of practices (Table 5.3 ; Figure 5.2). The largest differences were with Low diversification and Conventional tillage condition. The Low diversification-Reduced tillage or High diversification-Conventional tillage presented intermediate rhizosphere effects and were not statistically different (Figure 5.2). Under Conventional tillage, the indicator calculated for the High diversification treatment was significantly higher than the Low diversification condition (Table 5.3). However, no significant differences were estimated between the rhizosphere effects of the High diversification-Conventional tillage and the Low diversification-Reduced tillage treatments.

4. Discussion

Significant and positive rhizosphere effects were determined according to our methodology (Figure 5.1). Our results shed light on contrasted results in terms of promoting rhizosphere effect by agricultural practices. The maximal rhizosphere effect is estimated under High diversification combined with Reduced tillage for all enzymes (Figure 5.2 ; Table 5.2). However, the High diversification treatment did not preserve the maximal rhizosphere effect of β -glucosidase (GLU) and arylamidase (ARA) when soil perturbation increased (Figure 5.2; Table 5.3), while increased crop diversity promoted the rhizosphere effect of acid phosphatase with both tillage intensities (Figure 5.2; Table 5.3). The release by living roots of exudates by diverse and long rotation might have shaped the bulk microbiome ([Bonini Pires et al. 2020](#)). As phosphatase is considered to be the most sensitive enzyme to root exudation ([Zhang et al. 2019](#)), we hypothesized that the built-up of bulk microbiome by diversification ([Hunter et al. 2014](#)) preserved the phosphatase rhizosphere effect when soil

management shifted from reduced to conventional (Table 5.3 ; Figure 5.2 PAC). In accordance to local standards, sites exhibited poor (sample site S6) to moderately rich (sample site S3) available P (Table 5.1). As a consequence, the rhizosphere effect observed in our study is also attributed to the fertilizer management maintaining relative low P availability that promote rhizosphere effect. We did not support the results pointing at higher β -glucosidase activity with high diversification ([Bonini Pires et al. 2020](#)) in bulk soils (Figure 5.1b). However, we estimated an enhanced soil organic matter decomposition through β -glucosidase rhizosphere effect depicted as a priming effect in literature ([Zhu et al. 2014](#)). Uptake of N by plants can increase priming effect by destabilizing N demand by microbes, so we hypothesized that soil microbes used diversified rhizodeposition compounds to mine N from soil organic matter. However, such conditions are likely possible in fertilized soils ([Dijkstra et al. 2021](#)) yet a weak but significant arylamidase rhizosphere effect was estimated pointing at N mineralization in the rhizosphere. However, further experiments would have been necessary to understand our results because the priming effect can be explained by other root-related processes as soil aggregate destruction ([Dijkstra et al. 2021](#)). The observed deleterious effect of conventional tillage on bulk soils (Figure 5.1a) on arylamidase activity was also noticed in other studies ([Acosta-Martínez and Tabatabai 2001](#)). As soil arylamidase enzyme is intracellular ([Acosta-Martínez and Tabatabai 2001](#)), our results have to be considered in another perspective than phosphatase and β -glucosidase rhizosphere effect which are both intra- and extracellular enzymes. The ecological stoichiometry theory predicts induction process of enzyme production by soil microbes as a function of the soil microbial biomass and total resource (herein N) availability ([Zechmeister-Boltenstern et al. 2015](#)). If the significance (Table 5.2) of the high diversification on arylamidase rhizosphere effect is attributed to positive plant-soil feedbacks promoting microbial biomass, the significant effect of tillage (Table 5.2) is more complex to interpret. To support our interpretation, one should note that the total nitrogen content is mainly present as organic forms ([Kelley and Stevenson 1995](#)), and negative strong correlations were determined between total nitrogen content and arylamidase ([Rodríguez-Loinaz et al. 2008](#)). We then hypothesized that regular ploughing by farmers re-homogenized each year the soil organic nitrogen distribution over the 0-25 cm preserving high nitrogen forms in the entire soil layers compared to reduced tillage that concentrate soil organic matter in few first centimeters of soil. In turn, the arylamidase production by soil microbes in ploughed layers could have been repressed, fading the beneficial of diversification for arylamidase rhizosphere effect (Figure 5.2 ARA). Finally, in our study, we have pointed out the role of fertilization as an agricultural practice that may have an important role to manage rhizosphere effect. If N fertilization is claimed as an agricultural practice influencing the rhizosphere effect through pH modification ([Hinsinger 2001](#)), we stressed that the legacy effect of P should be better considered. Such consideration meets the long-term agricultural productivity under climate change because projections foresee an increase of phosphate genes in bulk soil microbiome

([Guerra et al. 2021](#)) encouraging to better explore the potential of the rhizosphere effect, especially for this critical finite resource ([Cordell et al. 2009](#)). Plant breeding ([Hunter et al. 2014](#)), or soil inoculation of seeds or plants ([Verbruggen et al. 2013](#), [Zhu et al. 2018](#)), nanomaterial fertilizers ([Trouillefou et al. 2015](#)) are also postulated as options to sustain agricultural productivity. However, some developments are ongoing or have limited robustness pleading to explore the ecological feedbacks loops in the rhizosphere. With this broader perspective, we stressed that considering crop rotation, soil management and fertilization as bundled agricultural practices regarding the management of the rhizosphere effect as a component of the plant-soil feedback is a new paradigm for cropping system design. However, the re-design of cropping systems will require to renew the toolbox of cropping scientists in order to take the long-term effects of crop succession ([Carof et al. 2022](#)). The integrated rhizosphere effect developed in the study could contribute to this aim, but further developments are required to understand to what extent the crop plant itself, as opposed to agricultural practices, drives the expected availability of nutrients or legacy effects through crop succession.

5. Conclusion

We demonstrated that managing the rhizosphere effect, a component of the plant-soil feedback, is possible in intensive, conventional cropping systems. The Rhizosphere Effect Indicator either individual or aggregated was designed as a tool to a broad audience as extension services and scientists to promote developments based on the soil-plant interplay for sustainable management of ecosystems.

6. References

- Acosta-Martínez, V., and M. Tabatabai. 2001. Tillage and residue management effects on arylamidase activity in soils. *Biology and Fertility of Soils* **34**:21-24. <https://doi.org/10.1007/s003740100349>
- Bates, D., M. Mächler, B. Bolker, and S. Walker. 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software* **67**:1 - 48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Bonini Pires, C. A., T. J. C. Amado, G. Reimche, R. Schwalbert, M. V. M. Sarto, R. S. Nicoloso, J. E. Fiorin, and C. W. Rice. 2020. Diversified crop rotation with no-till changes microbial distribution with depth and enhances activity in a subtropical Oxisol. *European Journal of Soil Science* **71**:1173-1187. <https://doi.org/10.1111/ejss.12981>
- Boudsocq, S., C. Cros, P. Hinsinger, and H. Lambers. 2022. Changes in belowground interactions between wheat and white lupin along nitrogen and phosphorus gradients. *Plant and Soil* **476**:97-115. <https://doi.org/10.1007/s11104-022-05558-3>
- Bunemann, E. K., G. Bongiorno, Z. G. Bai, R. E. Creamer, G. De Deyn, R. de Goede, L. Fleskens, V. Geissen, T. W. Kuyper, P. Mader, M. Pulleman, W. Sukkel, J. W. van Groenigen, and L. Brussaard. 2018. Soil quality - A critical review. *Soil Biology & Biochemistry* **120**:105-125. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.01.030>
- Bünemann, E. K., G. Schwenke, and L. Van Zwieten. 2006. Impact of agricultural inputs on soil organisms—a review. *Australian Journal of Soil Research* **44**:379-406. <https://doi.org/10.1071/SR05125>

- Caldwell, B. A. 2005. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: a review. *Pedobiologia* **49**:637-644. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2005.06.003>
- Carof, M., O. Godinot, and E. Le Cadre. 2022. Biodiversity-based cropping systems: A long-term perspective is necessary. *Science of the Total Environment* **838**:156022. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156022>
- Chausson, A., B. Turner, D. Seddon, N. Chabaneix, C. A. J. Girardin, V. Kapos, I. Key, D. Roe, A. Smith, S. Woroniecki, and N. Seddon. 2020. Mapping the effectiveness of nature-based solutions for climate change adaptation. *Glob Change Biol* **26**:6134-6155. <https://doi.org/10.1111/gcb.15310>
- Cheviron, N., V. Grondin, C. Marraud, F. Poiroux, I. Bertrand, J. Abadie, P. Pandard, W. Riah-Anglet, C. Dubois, S. Malý, C. R. Marques, I. V. Asenjo, A. Alonso, D. M. Díaz, and C. Mougin. 2021. Inter-laboratory validation of an ISO test method for measuring enzyme activities in soil samples using colorimetric substrates. *Environmental Science and Pollution Research* **29**:29348-29357. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17173-3>
- Chung, Y. A., and J. A. Rudgers. 2016. Plant–soil feedbacks promote negative frequency dependence in the coexistence of two aridland grasses. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **283**:20160608. <https://doi.org/10.1098/rspb.2016.0608>
- Cordell, D., J.-O. Drangert, and S. White. 2009. The story of phosphorus: Global food security and food for thought. *Global Environmental Change* **19**:292-305. <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2008.10.009>
- de Oliveira, A. B., A. A. M. Cantarel, M. Seiller, A. Florio, A. Berard, P. Hinsinger, and E. Le Cadre. 2020. Short-term plant legacy alters the resistance and resilience of soil microbial communities exposed to heat disturbance in a Mediterranean calcareous soil. *Ecological Indicators* **108**:9. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105740>
- Delgado-Baquerizo, M., P. B. Reich, C. Trivedi, D. J. Eldridge, S. Abades, F. D. Alfaro, F. Bastida, A. A. Berhe, N. A. Cutler, A. Gallardo, L. García-Velázquez, S. C. Hart, P. E. Hayes, J.-Z. He, Z.-Y. Hseu, H.-W. Hu, M. Kirchmair, S. Neuhauser, C. A. Pérez, S. C. Reed, F. Santos, B. W. Sullivan, P. Trivedi, J.-T. Wang, L. Weber-Gullon, M. A. Williams, and B. K. Singh. 2020. Multiple elements of soil biodiversity drive ecosystem functions across biomes. *Nature Ecology & Evolution* **4**:210-220. <https://doi.org/10.1038/s41559-019-1084-y>
- Dijkstra, F. A., B. Zhu, and W. Cheng. 2021. Root effects on soil organic carbon: a double-edged sword. *New Phytologist* **230**:60-65. <https://doi.org/10.1111/nph.17082>
- Dodor, D. E., and M. A. Tabatabai. 2007. Arylamidase activity as an index of nitrogen mineralization in soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **38**:2197-2207. <https://doi.org/10.1080/00103620701549132>
- Dotaniya, M. L., and V. D. Meena. 2015. Rhizosphere Effect on Nutrient Availability in Soil and Its Uptake by Plants: A Review. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences* **85**:1-12. <https://doi.org/10.1007/s40011-013-0297-0>
- Edwards, J., C. Santos-Medellín, B. Nguyen, J. Kilmer, Z. Liechty, E. Veliz, J. Ni, G. Phillips, and V. Sundaresan. 2019. Soil domestication by rice cultivation results in plant-soil feedback through shifts in soil microbiota. *Genome Biology* **20**:221. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1825-x>
- Ehrenfeld, J. G., B. Ravit, and K. Elgersma. 2005. Feedback in the plant-soil system. *Annual Review of Environment and Resources* **30**:75-115. <https://doi.org/10.1146/annurev.energy.30.050504.144212>
- Geertsema, W., W. A. Rossing, D. A. Landis, F. J. Bianchi, P. C. van Rijn, J. H. Schaminée, T. Tscharrntke, and W. van der Werf. 2016. Actionable knowledge for ecological intensification of agriculture. *Frontiers in ecology and Environment* **14**:209-216. <https://doi.org/10.1002/fee.1258>
- Gentsch, N., J. Boy, J. D. K. Batalla, D. Heuermann, N. von Wirén, D. Schwenecker, U. Feuerstein, J. Groß, B. Bauer, B. Reinhold-Hurek, T. Hurek, F. C. Céspedes, and G. Guggenberger. 2020. Catch crop diversity increases rhizosphere carbon input and soil microbial biomass. *Biology and Fertility of Soils* **56**:943-957. <https://doi.org/10.1007/s00374-020-01475-8>

- Guerra, C. A., R. D. Bardgett, L. Caon, T. W. Crowther, M. Delgado-Baquerizo, L. Montanarella, L. M. Navarro, A. Orgiazzi, B. K. Singh, L. Tedersoo, R. Vargas-Rojas, M. J. I. Briones, F. Buscot, E. K. Cameron, S. Cesarz, A. Chatzinotas, D. A. Cowan, I. Djukic, J. v. d. Hoogen, A. Lehmann, F. T. Maestre, C. Marín, T. Reitz, M. C. Rillig, L. C. Smith, F. T. d. Vries, A. Weigelt, D. H. Wall, and N. Eisenhauer. 2021. Tracking, targeting, and conserving soil biodiversity. *Science* **371**:239-241. <https://doi.org/10.1126/science.abd7926>
- Han, M., L. Sun, D. Gan, L. Fu, and B. Zhu. 2020. Root functional traits are key determinants of the rhizosphere effect on soil organic matter decomposition across 14 temperate hardwood species. *Soil Biology and Biochemistry* **151**:108019. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.108019>
- Hassan, K., K. M. Golam Dastogeer, Y. Carrillo, and U. N. Nielsen. 2022. Climate change-driven shifts in plant–soil feedbacks: a meta-analysis. *Ecological Processes* **11**:64. <https://doi.org/10.1186/s13717-022-00410-z>
- Henneron, L., C. Cros, C. Picon-Cochard, V. Rahimian, and S. Fontaine. 2020a. Plant economic strategies of grassland species control soil carbon dynamics through rhizodeposition. *Journal of Ecology* **108**:528-545. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13276>
- Henneron, L., P. Kardol, D. A. Wardle, C. Cros, and S. Fontaine. 2020b. Rhizosphere control of soil nitrogen cycling: a key component of plant economic strategies. *New Phytologist* **228**:1269-1282. <https://doi.org/10.1111/nph.16760>
- Hinsinger, P. 2001. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant and Soil* **237**:173-195. <https://doi.org/10.1023/a:1013351617532>
- Hinsinger, P., E. Betencourt, L. Bernard, A. Brauman, C. Plassard, J. B. Shen, X. Y. Tang, and F. S. Zhang. 2011. P for Two, Sharing a Scarce Resource: Soil Phosphorus Acquisition in the Rhizosphere of Intercropped Species. *Plant Physiology* **156**:1078-1086. <https://doi.org/10.1104/pp.111.175331>
- Hinsinger, P., C. Plassard, C. X. Tang, and B. Jaillard. 2003. Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: A review. *Plant and Soil* **248**:43-59. <https://doi.org/10.1023/a:1022371130939>
- Hu, L., C. A. M. Robert, S. Cadot, X. Zhang, M. Ye, B. Li, D. Manzo, N. Chervet, T. Steinger, M. G. A. van der Heijden, K. Schlaeppi, and M. Erb. 2018. Root exudate metabolites drive plant-soil feedbacks on growth and defense by shaping the rhizosphere microbiota. *Nature Communications* **9**:2738. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05122-7>
- Hunter, P. J., G. R. Teakle, and G. D. Bending. 2014. Root traits and microbial community interactions in relation to phosphorus availability and acquisition, with particular reference to Brassica. *Frontiers in Plant Science* **5**:18. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00027>
- Kanté, M., W. Riah-Anglet, J.-B. Cliquet, and I. Trinsoutrot-Gattin. 2021. Soil Enzyme Activity and Stoichiometry: Linking Soil Microorganism Resource Requirement and Legume Carbon Rhizodeposition. *Agronomy* **11**:2131. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112131>
- Keesstra, S., J. Nunes, A. Novara, D. Finger, D. Avelar, Z. Kalantari, and A. Cerdà. 2018a. The superior effect of nature based solutions in land management for enhancing ecosystem services. *Science of the Total Environment* **610-611**:997-1009. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.077>
- Keesstra, S., J. Nunes, A. Novara, D. Finger, D. Avelar, Z. Kalantari, and A. J. Cerdà. 2018b. The superior effect of nature based solutions in land management for enhancing ecosystem services. *Science of the Total Environment* **610**:997-1009.
- Kelley, K. R., and F. J. Stevenson. 1995. Forms and nature of organic N in soil. *Fertilizer research* **42**:1-11. <https://doi.org/10.1007/BF00750495>
- Kirkham, M. B. 2005. Chapter 8 – Field Capacity, Wilting Point, Available Water, and the Nonlimiting Water Range. *in* M. B. Kirkham, editor. *Principles of soil and plant water relations*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012409751-3/50008-6>

- Kong, H. G., G. C. Song, and C.-M. Ryu. 2019. Inheritance of seed and rhizosphere microbial communities through plant–soil feedback and soil memory. *Environmental Microbiology Reports* **11**:479-486. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12760>
- Kuznetsova, A., P. B. Brockhoff, and R. H. B. Christensen. 2017. lmerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. *Journal of Statistical Software* **82**:1 - 26. <https://doi.org/10.18637/jss.v082.i13>
- Kuzyakov, Y., and B. S. Razavi. 2019. Rhizosphere size and shape: Temporal dynamics and spatial stationarity. *Soil Biology & Biochemistry* **135**:343-360. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.05.011>
- Lancashire, P. D., H. Bleiholder, T. Vandenboom, P. Langeluddeke, R. Stauss, E. Weber, and A. Witzemberger. 1991. A uniform decimal code for growth-stages of crops and weeds. *Annals of Applied Biology* **119**:561-601. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1991.tb04895.x>
- Le, S., J. Josse, and F. Husson. 2008. FactoMineR: An R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software* **25**:1-18. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>
- Lenth, R., H. Singmann, J. Love, P. Buerkner, and M. J. R. Herve. 2018. Emmeans: Estimated marginal means, aka least-squares means. Available at: <https://github.com/rvleenth/emmeans>.
- Mach, K. J., M. C. Lemos, A. M. Meadow, C. Wyborn, N. Klenk, J. C. Arnott, N. M. Ardoin, C. Fieseler, R. H. Moss, L. Nichols, M. Stults, C. Vaughan, and G. Wong-Parodi. 2020. Actionable knowledge and the art of engagement. *Current Opinion in Environmental Sustainability* **42**:30-37. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2020.01.002>
- Mira, S., C. Mougél, M. Ourry, and E. Le Cadre. 2022. A field indicator for rhizosphere effect monitoring in arable soils. *Plant and Soil*. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-05284-2>
- Mooshammer, M., F. Hofhansl, A. H. Frank, W. Wanek, I. Hämmerle, S. Leitner, J. Schneckner, B. Wild, M. Watzka, K. M. Keiblinger, S. Zechmeister-Boltenstern, and A. Richter. 2017. Decoupling of microbial carbon, nitrogen, and phosphorus cycling in response to extreme temperature events. *Science Advances* **3**:e1602781. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1602781>
- Munoz-Ucros, J., M. J. Zwetsloot, C. Cuellar-Gempeler, and T. L. Bauerle. 2021. Spatiotemporal patterns of rhizosphere microbiome assembly: From ecological theory to agricultural application. *Journal of Applied Ecology* **58**:894-904. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13850>
- Nannipieri, P., L. Giagnoni, L. Landi, and G. Renella. 2011. Role of Phosphatase Enzymes in Soil. Pages 215-243 in E. K. Bunemann, A. Oberson, and E. Frossard, editors. *Phosphorus in Action: Biological Processes in Soil Phosphorus Cycling*. Springer-Verlag Berlin, Berlin. https://doi.org/10.1007/978-3-642-15271-9_9
- Nelson, A. G., and D. Spaner. 2010. Cropping Systems Management, Soil Microbial Communities, and Soil Biological Fertility. Pages 217-242 in E. Lichtfouse, editor. *Genetic Engineering, Biofertilisation, Soil Quality and Organic Farming*. Springer Netherlands, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-90-481-8741-6_8
- Paterson, E. 2003. Importance of rhizodeposition in the coupling of plant and microbial productivity. *European Journal of Soil Science* **54**:741-750. <https://doi.org/10.1046/j.1351-0754.2003.0557.x>
- Preece, C., and J. Peñuelas. 2020. A Return to the Wild: Root Exudates and Food Security. *Trends in Plant Science* **25**:14-21. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.09.010>
- Pugnaire, F. I., J. A. Morillo, J. Peñuelas, P. B. Reich, R. D. Bardgett, A. Gaxiola, D. A. Wardle, and W. H. van der Putten. 2019. Climate change effects on plant-soil feedbacks and consequences for biodiversity and functioning of terrestrial ecosystems. *Science Advances* **5**:eaaz1834. <http://doi.org/10.1126/sciadv.aaz1834>
- R Development Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. Pages Retrieved from <http://www.R-project.org>. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. .
- Reinhold-Hurek, B., W. Bunger, C. S. Burbano, M. Sabale, and T. Hurek. 2015. Roots Shaping Their Microbiome: Global Hotspots for Microbial Activity. Pages 403-+ *Annual Review of Phytopathology*, Vol 53. Annual Reviews, Palo Alto. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102342>

- Rodríguez-Loinaz, G., M. Onaindia, I. Amezaga, I. Mijangos, and C. Garbisu. 2008. Relationship between vegetation diversity and soil functional diversity in native mixed-oak forests. *Soil Biology and Biochemistry* **40**:49-60. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.04.015>
- Saghaï, A., L. Wittorf, L. Philippot, and S. Hallin. 2022. Loss in soil microbial diversity constrains microbiome selection and alters the abundance of N-cycling guilds in barley rhizosphere. *Applied Soil Ecology* **169**:104224. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104224>
- Schwerdtner, U., and M. Spohn. 2022. Plant Species Interactions in the Rhizosphere Increase Maize N and P Acquisition and Maize Yields in Intercropping. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* **22**:3868-3884. <https://doi.org/10.1007/s42729-022-00936-3>
- Soltani, I., Y. Fouad, D. Michot, P. Pichelin, and C. Cudennec. 2019. Relevance of a near infrared spectral index for assessing tillage and fertilization effects on soil water retention. *Soil & Tillage Research* **194**:104345. <https://doi.org/10.1016/j.still.2019.104345>
- Stott, D. E., S. S. Andrews, M. A. Liebig, B. J. Wienhold, and D. L. Karlen. 2010. Evaluation of β -Glucosidase Activity as a Soil Quality Indicator for the Soil Management Assessment Framework. *Soil Science Society of America Journal* **74**:107-119. <https://doi.org/10.2136/sssaj2009.0029>
- Thuriès, L., M. C. Larré-Larrouy, and M. Pansu. 2000. Evaluation of three incubation designs for mineralization kinetics of organic materials in soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **31**:289-304. <https://doi.org/10.1080/00103620009370437>
- Tiemann, L. K., A. S. Grandy, E. E. Atkinson, E. Marin-Spiotta, and M. D. McDaniel. 2015. Crop rotational diversity enhances belowground communities and functions in an agroecosystem. *Ecology Letters* **18**:761-771. <https://doi.org/10.1111/ele.12453>
- Trouillefou, C. M., E. Le Cadre, T. Cacciaguerra, F. Cunin, C. Plassard, and E. Belamie. 2015. Protected activity of a phytase immobilized in mesoporous silica with benefits to plant phosphorus nutrition. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* **74**:55-65. <https://doi.org/10.1007/s10971-014-3577-0>
- Veen, G. F., E. L. Fry, F. C. ten Hooven, P. Kardol, E. Morriën, and J. R. De Long. 2019. The Role of Plant Litter in Driving Plant-Soil Feedbacks. *Frontiers in Environmental Science* **7**. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2019.00168>
- Verbruggen, E., M. G. A. van der Heijden, M. C. Rillig, and E. T. Kiers. 2013. Mycorrhizal fungal establishment in agricultural soils: factors determining inoculation success. *New Phytologist* **197**:1104-1109. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04348.x>
- Wang, L., Z. Rengel, K. Zhang, K. Jin, Y. Lyu, L. Zhang, L. Cheng, F. Zhang, and J. Shen. 2022. Ensuring future food security and resource sustainability: insights into the rhizosphere. *iScience* **25**:104168. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104168>
- Zechmeister-Boltenstern, S., K. M. Keiblinger, M. Mooshammer, J. Penuelas, A. Richter, J. Sardans, and W. Wanek. 2015. The application of ecological stoichiometry to plant-microbial-soil organic matter transformations. *Ecological Monographs* **85**:133-155. <https://doi.org/10.1890/14-0777.1>
- Zhang, X., M. A. Dippold, Y. Kuzyakov, and B. S. Razavi. 2019. Spatial pattern of enzyme activities depends on root exudate composition. *Soil Biology and Biochemistry* **133**:83-93. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.02.010>
- Zhu, B., J. L. M. Gutknecht, D. J. Herman, D. C. Keck, M. K. Firestone, and W. Cheng. 2014. Rhizosphere priming effects on soil carbon and nitrogen mineralization. *Soil Biology and Biochemistry* **76**:183-192. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.04.033>
- Zhu, J., M. Li, and M. Whelan. 2018. Phosphorus activators contribute to legacy phosphorus availability in agricultural soils: A review. *Science of the Total Environment* **612**:522-537. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.095>
- Zhu, S.-G., Z.-G. Cheng, H.-H. Yin, R. Zhou, Y.-M. Yang, J. Wang, H. Zhu, W. Wang, B.-Z. Wang, W.-B. Li, H.-Y. Tao, and Y.-C. Xiong. 2022. Transition in plant-plant facilitation in response to soil water and phosphorus availability in a legume-cereal intercropping system. *BMC Plant Biology* **22**:311. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03706-6>

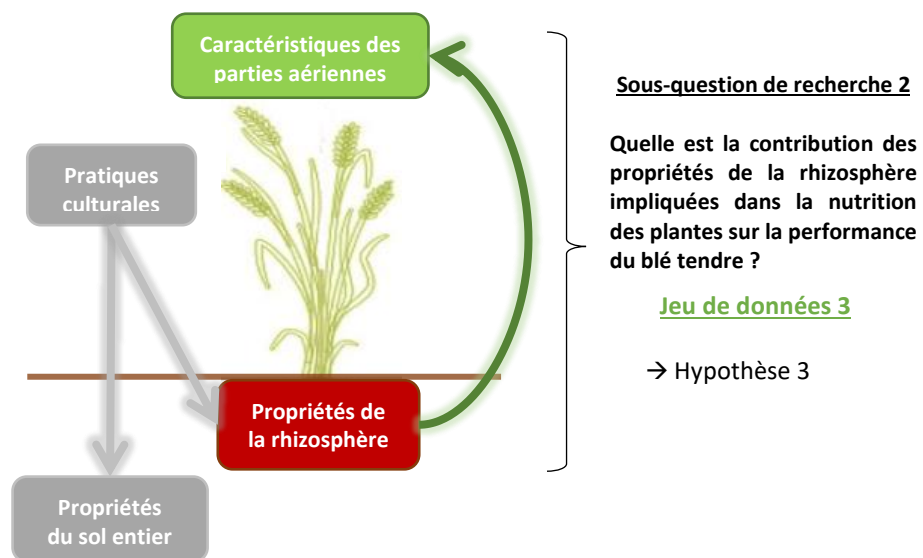
Chapitre 6

Développement d'une méthode d'analyse exploratoire de structures causales par une modélisation par équations structurales à variables latentes.
Application à un système sol-plante

Ce chapitre correspond à un article en second auteur **en voie de soumission** dans la revue *Methods in Ecology and Evolution* intitulé : **Exploring a causal space of complex biological systems using Latent Structural Equation Modeling : a new framework**

Ces résultats ont fait l'objet d'une présentation orale au séminaire NetBio (Paris 2021 : « Application de la modélisation par équations structurales en écologie : Exemple d'un système sol-plante »).

L'objectif de ce chapitre est de proposer une méthodologie pluridisciplinaire permettant l'élaboration et l'exploration d'un ensemble de structures causales. Ce cadre de travail a été appliqué à des données expérimentales collectées en conditions contrôlées (**jeu de données 3**) afin d'identifier des structures causales non rejetées par les données pour représenter un système d'étude sol-plante.



Keywords

Exploratory approach; structural model ; latent variable ; soil:plant interface

Abstract

Structural Equation Modeling is used in ecological studies to confirm pre-assumed multivariate causal relationships. However, in most ecological systems, knowledge is not sufficiently consistent to propose unambiguous causal relationships to be tested. Exploratory approach is needed to select causality patterns that are worth to be investigated *a posteriori*. Here we develop a general framework, based on Latent Variable Structural Equation Modeling that aims to build and explore a space of causality patterns.

The added value of the framework is to provide realistic causality patterns that combine different sources of knowledge, including autochthonous or practitioners embedded in Latent Variables. Grounded to statistical methods, exploration of the causal space is applicable to identify all valid causality patterns of a system. Application of our framework to soil:root interactions demonstrates its capacity to investigate the causal space of Nature-based solutions to explore for a viable world.

1. Introduction

Structural Equation Modeling (SEM) is a statistical method used to investigate causal relationships ([Grace et al. 2016](#)) and became increasingly used in last decade in ecological studies ([Eisenhauer et al. 2015](#), [Fan et al. 2016](#)) mainly through confirmatory approaches ([Trivedi et al. 2020](#)). SEM-based confirmatory approach was applied to analyze climate change effects on plant functioning ([Antoninka et al. 2011](#), [Galiano et al. 2011](#), [Rubin et al. 2018](#)), plant interactions ([Schob et al. 2014](#), [Godlee et al. 2021](#)), or plant invasions ([Heath et al. 2014](#), [Yu et al. 2021](#)) that contribute to a system-level understanding ([Grace et al. 2016](#)).

Confirmatory approaches aim at testing the validity of *a priori* hypothesis, especially the existence of causal links that have been postulated with respect to a predefined theory ([Garrido et al. 2022](#)). Theory or autochthonous knowledge is often not precise enough to remove any ambiguity about the nature of the causal links. Proposing causal hypothesis that are worth testing is therefore an even greater challenge faced by biologists ([Shiple 2016c](#)). Exploratory approaches have thus to be implemented to screen a space of causality patterns for building a set of causal hypothesis that could be tested *a posteriori*. The traditional SEM methodology is not yet fully adapted to the exploratory approach whereas some methods such as the exploratory path analysis algorithm ([Shiple 1997](#)) are cited. Indeed, in the latter, the space of causality patterns is the set of path models that account for the ambiguous causal specifications between pairs of measured variables. However, in most complex biological systems, measured variables are considered as the shadow of the latent attributes that carry causal relationships ([Iriando et al. 2003](#)). Illuminate shadowed causal patterns between network of latent attributes of biological systems ([Grace et al. 2010](#)) is critical because approaches based on measured variables are likely to highlight causal links that lack in genericity and accordingly limit our chances to foresee the possible consequences of human alteration of environmental factors.

Modern Structural Equation Modeling, through the use of latent variables, provides an appropriate mathematical theory to explore causality ([Mai et al. 2018](#)). Latent variables are indeed abstract concepts that represent the various attributes of a system and, therefore, are only observed indirectly through the set of measured variables. A Latent Variable Structural Equation Model relies on a network of causal links between latent variables that are defined based on theory or expert knowledge ([Marsh et al. 2013](#)). A Latent Variable Structural Equation Model therefore combines hypothesis-driven and data-driven information to highlight shadowed emergent properties of living systems while keeping the understanding of the whole process ([Fan et al. 2016](#)). To investigate several hypothesis on the overall functioning of the system, one should explore a set of Latent Variable Structural Equation Models that represent different patterns of causality between latent variables. Such a set of Latent

Variable Structural Equation Models characterizes the space of causality patterns in which exploratory approach has to be performed. Compared to pure data-driven factor models, such as Exploratory Factor Analysis where all causality patterns are *a priori* considered, Latent Variable Structural Equation Model-based exploratory approach focuses on a search space restricted to relevant and interpretable models. Accordingly, Latent Variable Structural Equation Modeling allows to unify different experts thus facilitating mediation through theoretical entities. It therefore has the potential to promote inductive scientific-stance bridging local, indigenous and theorists ([Gomez and Zamora 2000](#)) knowledge to overcome current main environmental and societal issues. However, methodological improvement of the Latent Variable Structural Equation Model-based exploratory approach stemmed from the building, the analysis and the comparison of competing models that characterize a space of latent causality patterns. To be a powerful overarching integration of the best aspect of path analysis and factor exploratory approaches, Latent Variable Structural Equation Model-based exploratory analysis has to be well balanced between expert knowledge and statistical considerations. Developing a specific exploratory methodology as an interplay between expertise and statistical regard is also critical to prevent from sincere but meaningless or misleading conclusions.

In this article, we present a methodological Latent Variable Structural Equation Model framework applied to plant sciences, with a particular emphasis to the soil:root interface, as example of Nature-based solutions ([Pulleman et al. 2012](#), [Aitkenhead 2020](#)). Applying an exploratory approach owing to the Latent Variable Structural Equation Model to soil:root interface or rhizosphere is then an ideal application case to make a step further to the next generation of Structural Equation Modeling framework. Indeed, conceptualization of the plant -soil -microbes interplay is far from simple because of practical determination of the rhizosphere compartment or tremendously dynamic variations of this particular soil compartment ([Munoz-Ucros et al. 2021](#)) whereas performances of Nature-based solutions are tightly bound to this particular interface.

2. A framework for explanatory analysis based on Latent Variable Structural Equation Modeling

2.1. Step #1: Latent variable status in directed acyclic graphs to represent the system as candidate models to test

The first step of our framework consists in designing a conceptual representation of the functioning of the system using Directed Acyclic Graphs ([Tu 2012](#), [Shiple 2016b](#)). The design of the conceptual Directed Acyclic Graphs must drag all type of expertise to include the most of the knowledge in the conceptual model. In Latent Structural Equation Modeling, the distinction between manifest variables

and latent variables allows to decompose the whole conceptual model into submodels: the structural models (also called latent models) and the measurement models.

2.1.1. Step #1.1: Design of the structural model

Experts should first concentrate on the design of the structural model (see Figure 6.1a) by (1) determining the latent variables needed to represent the attributes of the system and (2) specifying the links between those latent variables. In Latent Structural Equation Modeling, a link between two latent variables is displayed as an oriented edge in the corresponding Directed Acyclic Graph. Single-headed edges are interpreted as a causal link from the starting variable to the ending variable while double-headed edges characterize non-oriented links between two variables thus corresponding to a covariance rather than a causal relationship. The absence of an edge between two vertices is particularly relevant in a Latent Structural Equation Modeling since it corresponds to the absence of a causal effect between the two variables. When no consensus is obtained between experts on (i) the presence or absence of an edge, (ii) the direction of an edge, several subgraphs have to be proposed as a set of candidate structural models (i.e. a set of latent causality patterns), as displayed by the red arrow in Figure 6.1.a.

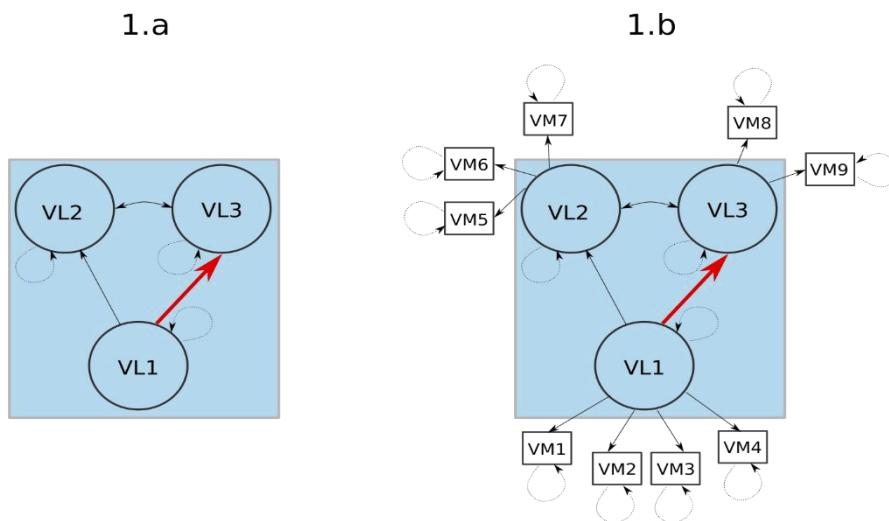


Figure 6.1 : Directed acyclic graphs (DAGs) used in an exploratory approach based on Latent Variable Structural Equation Modeling. Rectangles stands for Manifest Variables VM1 to VM9; circles for latent variables VL 1 to VL3, and edges dashes single-headed arrow that points from a variable to itself, characterize the residual variance of each variable. In left panel (1.a), the structural model is defined by three latent variables (VL1, VL2 and VL3). The causal link between VL1-VL2 is unambiguous (black oriented arrow) and, when no theory supports any directional effect, double-headed arrows are used to indicate a covariance effect. The causal link between VL1-VL3 is uncertain (red arrow) thus leading to two competing structural models: one DAG with the arrow and one DAG without the arrow. In the right part (1.b), latent variables are fed by a total of 9 manifest variables (VM1-VM9). In an exploratory analysis, both models are considered as two candidate structural models in a space of causality pattern.

2.1.2. Step #1.2: Design of the measurements models

Once candidate structural models are set, experts should focus on measurement models that aim at choosing the manifest variables and the links between manifest variables and latent variables. Under reflective models ([Edwards and Bagozzi 2000](#)), each latent variable is characterized by one measurement model and one manifest variable is “caused” by only one latent variable as exemplified in Figure 6.1.b. For any latent variable, the choice of the set of manifest variables should reflect the complexity and the multidimensionality of the corresponding attribute.

2.2. Step #2: Collecting and preparing data for Latent SEM

The second step of our framework consists in collecting data in order to implement the estimation step (see Step #3) with a dataset that both (i) characterizes the conceptual models proposed in Step #1 and (ii) limit statistical issues related to model fitting.

Conceptual models often incorporate manifest variables that may be difficult to acquire individually (for financial, technical or temporal reasons) and sets of variables that can hardly be collected simultaneously. Furthermore, the capacity for a Latent Structural Equation Model to well fit data is related to the number of manifest variables and their correlation structure ([Bollen and Davis 2009](#)). Those practical considerations have to be considered in the selection of the truly observed manifest variables.

The number of observations also plays a major role in Latent Structural Equation Modeling. However, determining the optimal number of observations is still challenging since it depends on the level of complexity of the systems of study, both in terms of Directed Acyclic Graphs structure and of effect size ([Gomer et al. 2019](#)). Therefore, the choice of the number of observations to be collected have to be made with respect to (i) the necessary condition for the statistical estimation, (ii) the context of the study and (iii) the constraints of the acquisition protocol.

Once data have been collected, preliminary data management have to be performed to account for missing observations ([Allison 2003](#)). Although techniques have been developed to deal with missing data in Structural Equation Models, it may be safer to remove observations or variables that include missing values. Next, statistical hypothesis regarding the multivariate normal distribution of the manifest variables have to be checked using Henze-Zickler test ([Henze and Zirkler 1990](#)) and Mardia's test for example ([Mardia 1974](#)). Another important step in data management is the detection of outliers and especially multivariate outliers that can be performed using the Mahalanobis squared distance ([Yuan and Zhong 2008](#)). The removing of outliers allows to overcome non-multinormality in the whole dataset.

2.3. Step #3: confronting Directed Acyclic Graphs with observed data by fitting Latent Structural Equation Models

The third step of our framework aims at testing the conceptual models designed in Step #1 against collected data in Step #2 by estimating Latent Structural Equation Models derived from the DAGs. To this aim, we first propose an original approach to build a set of candidate models from the set of conceptual models and, then, detail the various step needed to fit each Structural Equation Model.

2.3.1. A data-driven approach to build the set of estimable candidate models

To be compared, candidate models have to share the same set of manifest variables. Therefore, the building of candidate models relies on the modification of the latent variables. Since latent variables characterize, in many situations, theoretical concepts that are multidimensional rather than unidimensional, we propose to adjust each measurement model using a Principal Component Analysis. Indeed, Principal Component Analysis allows for a decomposition of a multivariate dataset, with either small or large numbers of variables, into several independent univariate components. Based on a multidisciplinary approach that combines statistical and biological expertise, we replace each latent variable by its principal components. The number of retrieved principal components is chosen with respect to biological interpretations and each principal component is characterized by the most contributed variables (see Figure 6.2).

Each resulting Directed Acyclic Graph can be translated into a Structural Equation Model that has to be estimated based on the data collected in Step #2 ([Shipley 2016b](#)). Unfortunately, the theory of Structural Equation Modeling lacks in having a general necessary and sufficient condition of model identification and check for identification of a given model is based on various rules-of-thumb. A first necessary condition, called the t-rule, aims at determining if the number of free parameters in a model is not larger than the number of non-redundant elements ([Bollen 1989](#)). In Structural Equation Models, since the aim is to fit the covariance matrix of the manifest variables, the non-redundant elements are given by:

$$\text{Non - redundant elements} = \frac{q(q+1)}{2}$$

Equation 6.1 : Number of non-redundant elements, where q is the number of manifest variables.

If the number of free parameters is larger than the non-redundant elements, biological expertise is required to fix some parameters in order to satisfy the t-rule. In Latent Structural Equation Modeling, another necessary rule condition is given by the 2+ emitted paths rule ([Bollen and Davis 2009](#)). This rule states that each latent variable must be the origin of at least two directed edges. Finally, a major rule concerns the scaling of each latent variable. Because a latent variable is unmeasured, its unit must

be set either by fixing a coefficient path with one manifest variable or by fixing its own residual variance.

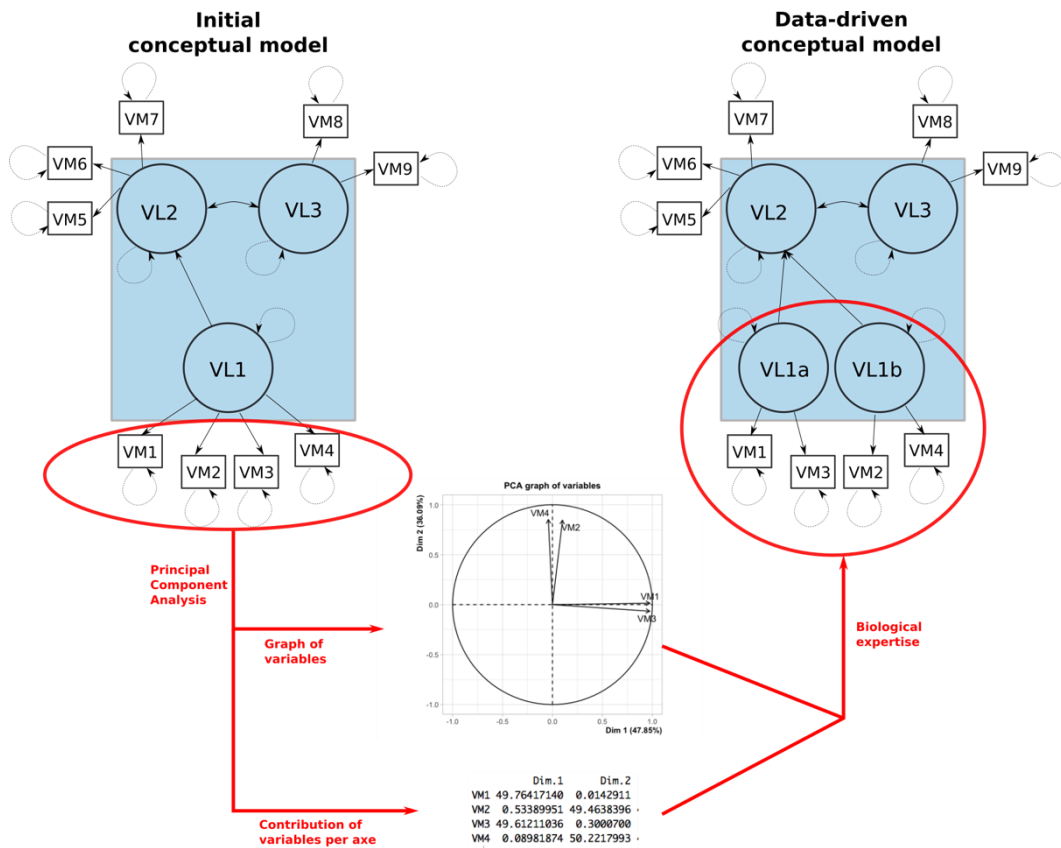


Figure 6.2 : Data driven decomposition of one measurement model. In the initial conceptual model (top left part of the figure), the system attribute VL1 is ambiguous. The measurement model associated with the attribute VL1 is fed by 4 manifest variables. The principal component analysis based on the observations of these 4 variables shows the multidimensionality of the measurement space. Given the statistical expertise based on the graph of variables and the level of contribution of each manifest variables to the principal components, and the biological expertise that confirm the relevance of the components, the initial attribute VL1 is subdivided into two latent variables VL1a and VL1b.

2.3.2. Parameters estimation

Maximum likelihood is the most widely used method to estimate parameters in Latent Structural Equation Models (Bollen 1989, Shipley 2016d). However, when unsuccessfully estimation is obtained, fixing more parameters is needed in the specification of candidate model. Specific issues related to the estimation of negative variance can also be encountered by Latent Structural Equation Model users. In that case, candidate models estimated should be interpreted as a poor fit and have to be deleted from the set of candidate models.

2.3.3. *Candidate model fit evaluation*

A Goodness-Of-Fit χ^2 -square test have to be performed for each remaining candidate model to determine if the hypothesis on the presence/absence of edges between variables are supported by observations. Only candidate models that are not rejected by the Goodness-Of-Fit test are retained in a consolidated set of candidate models used in the next step of the framework.

2.4. *Step #4: Comprehensive biological interpretation of Latent Structural Equation Modeling exploratory approach outputs*

To provide a sound interpretation of the models selected in the previous steps, one should verify that they represent different modeling hypothesis using a test for equivalence ([Asparouhov and Muthen 2019](#)). Selected models can also be ranked based on information criteria, such as the Akaike Information Criteria, so that model ranking serves as a guideline to extract relevant causal link that are worth testing.

To remove any ambiguous and misleading interpretation, we strongly recommend to provide a detailed description of the modeling choices made along the Latent Structural Equation Modeling exploratory approach. In particular, a detailed description of data acquisition protocols is crucial to allow a comprehensive analysis of the results. Moreover, the decomposition of attributes in several latent variables has to be mentioned. Statistical arguments regarding the choice of parameter constraints for the estimation is fundamental for promoting reproducibility. We also recommend to provide, for each validated model, the p-value of the Goodness-Of-Fit χ^2 test along with the degrees of freedom.

3. *Framework application to above-belowground interactions*

3.1. *Conceptual modeling of soil:plant interaction including the rhizosphere*

In our case study, the aim is to explore the contribution of the rhizosphere with a holistic approach of the above and -belowground attributes of plant compartments. The model is therefore kept as simple as possible and is characterized by five main attributes (Rhizosphere, Root, Shoots, Leaves and Ears) along with a conceptualized interaction network (See Figure 6.3).

According to expert knowledge, it is considered that (i) Ears is only caused by Shoots and Leaves, (ii) Shoots is only caused by Root and (iii) Leaves is only caused by Root. The current knowledge on the rhizosphere is however not sufficient to remove all the uncertainties concerning its functioning. Rhizosphere attribute and its link with the Root attribute are colored in red in Figure 6.3 to indicate the source of ambiguity that will be used to generate the space of latent causality patterns.

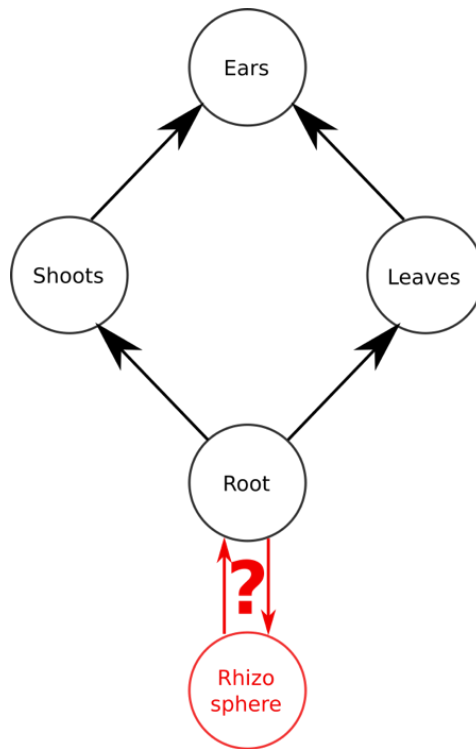


Figure 6.3 : Directed Acyclic Graph (DAG) of the conceptual modeling of case study (soil:plant interface or rhizosphere) made by 4 black described attributes (Ears, Shoots, Leaves and Root in black circles) and 1 red ambiguous attribute (Rhizosphere in red circle). Uncertain elements are used to build a space of causality patterns in our exploratory framework. The Rhizosphere attribute may therefore be decomposed in more than one latent variable.

3.2. Rhizobox experiment for data acquisition

3.2.1. Acquisition protocol

This study was conducted on winter wheat plants (*Triticum aestivum* var. Absalon) grown individually in rhizotron (100 x 30 x 0.5 cm) considered as an experimental unit. 55 rhizoboxes filled with a substrate composed of agricultural soil (16% clay, 69% total loam, 15% total sand, 2% organic matter, pH 6.7, CEC 7) and perlite (Massó garden www.massogarden.com) at a volume ratio of 2:1 were moistened at 70% of field capacity. Ten days after soil:perlite substrate re-humectation at 20°C, two seeds (comprised in a 5% weight range around the thousand seeds weight) were sown in each rhizotron and placed at 20°C in a greenhouse. Three days after germination, one seedling was removed and rhizoboxes were placed at 4°C for vernalization in a phytotron for six weeks with 8:16 day:night photoperiod. Then, rhizoboxes were installed in a phytotron under optimal growth conditions (16 hours daylight at 20°C and $350 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 8 hours night at 18°C, 50% air moisture). Rhizoboxes were automatically irrigated with deionized water to keep substrate moisture at 70% field capacity. At

heading stage ([Lancashire et al. 1991](#)), plants, roots and rhizosphere were collected for further analysis. Soil microbial biomass (mgC Kg^{-1} dry soil, defined as microbialBiomass) was determined using fumigation-extraction method with a conversion factor of 0.45 ([Wu et al. 1990](#)). Soil pH_{water} (ISO 10390:1994), and three enzymatic activities (mU g^{-1} dry soil) involved in P-mineralisation cycle (acid and alkaline phosphatase, termed PAC and PAK, respectively) and C-mineralisation cycle (β -glucosidase, GLU) were determined immediately after sampling at the INRAE platform Biochem-Env (www.biochemenv.fr) according to [Cheviron et al. \(2022\)](#). Belowground traits were root biomass (RootBiomass) and Specific Root Length (SRL). For each plant, three primary roots were randomly selected to acquire the Specific Root Length defined as the root length:dry biomass ratio. Sampled primary roots were scanned and analyzed using SmartRoot ([Lobet et al. 2011](#)) whereas primary roots were dried at 60°C for 72 hours and weighted for biomass determination. Aboveground plant traits measured were stems (ShootBiomass), leaves (LeafBiomass) and ears biomass (earBiomass), and shoots (Nshoots) and ears (Nears) numbers. Leaf area trait (LeafArea) corresponding to the cumulative area of the leaves of the whole plant were determined by using an optical planimeter (LI-3100C LI-COR Biosciences GmbH www.licor.com). Plant parts (roots, stems, leaves and ears) were dried at 60°C for 72 hours and weighted to estimate dry biomass.

3.2.2. *Data management*

The dataset did not contain any missing value. Multinormality was tested by using the Henze-Zirkler test implemented in the MVN R package (Version 5.9). However, multinormality of the whole dataset was rejected with a $p\text{-value}=0.0427$. To overcome such issue, we checked for multivariate outlier by calculating the Mahalanobis squared distance (D^2) for each observation. The “outlier” function from the R package psych (Version 2.1.9) showed that the highest value was obtained for the Rhizobox#53 ($D^2=24.94$). Rhizobox#53 was then removed and the updated dataset did not reject multinormality ($p\text{-value}=0.0805$ for the Henze-Zirkler test). Multinormality was further investigated by testing the skewness and the kurtosis coefficients that were both acceptable ($p\text{-value}=0.279$ and $p\text{-value}=0.143$ respectively), thus confirming that multinormality for the updated dataset with 54 observations was not rejected.

3.3. *Confronting Diagram Acyclic Graphs with observed data by fitting SEMs*

3.3.1. *Building of the set of estimable candidate models*

As shown in red in Figure 6.3, our system of study has various sources of uncertainty: (i) the composition of the Rhizosphere attribute, (ii) the causal links within the Rhizosphere attribute and (iii) the causal link between the Rhizosphere attribute and the Root attribute.

According to our framework, we first performed a Principal Component Analysis on the set of manifest variables that characterizes the Rhizosphere attribute (PAC, GLU, PAK, microbialBiomass and pH). The result of the Principal Component Analysis allowed to decompose the Rhizosphere attribute into three latent variables as follows: the latent variable ENZYMES related to PAC, GLU and PAK, the latent variable SOIL pH corresponding to the manifest variable pH and the latent variable MICROBES that refers to the manifest variable microbialBiomass.

To build the set of candidate models, we first identify 5 causality patterns within the Rhizosphere attribute (*i.e.* between the 3 latent variables ENZYMES, SOIL pH and MICROBES). As displayed in Figure 6.4, we labelled the five patterns by A, B, C, D and E. Pattern A depicts that all the three latent variables from the Rhizosphere are directly linked to the Root attribute while no causal link exists between them. In pattern B, two latent variables from the Rhizosphere are directly linked to Root while the third variable is linked to only one of the other variables from the Rhizosphere. Pattern C is similar to pattern B except that the third variable from the Rhizosphere is linked to the two other variables. In pattern D, we assume that the three variables from the Rhizosphere form an unidirectional causality chain and only the variable at the end of the chain is linked to the Root. Finally, in pattern E, two latent variables from the Rhizosphere are both linked to the third one and only the third variable is linked to the Root.

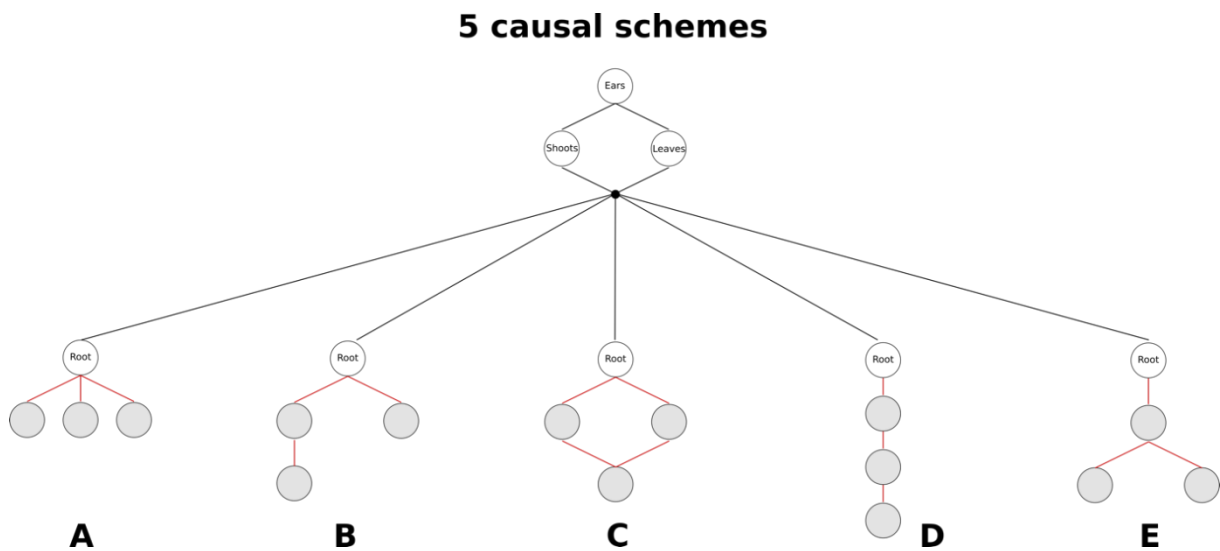


Figure 6.4 : General causality patterns (A, B, C, D and E) obtained from the Principal Component Analysis decomposition of the Rhizosphere attribute into three latent variables. The grey circles correspond to the three latent variables from the Rhizosphere attribute.

For each pattern, all combinations of the variables from the Rhizosphere attribute are possible, thus leading to one possible model with pattern A (model A1), 6 models with patterns B (models B1, B2, B3, B4, B5 and B6), 3 models with pattern C (models C1, C2 and C3), 6 models with pattern D (models D1, D2, D3, D4, D5 and D6) and 3 models with pattern E (models E1, E2 and E3). Finally, since we consider models where Rhizosphere influences Root and, on the opposite, models where Root influences Rhizosphere, we end up with an initial set of 38 candidate models (See Figure 6.5). Models where Root influences Rhizosphere are labelled with the prefix “inv” (invA1, invB1, ..., invE3).

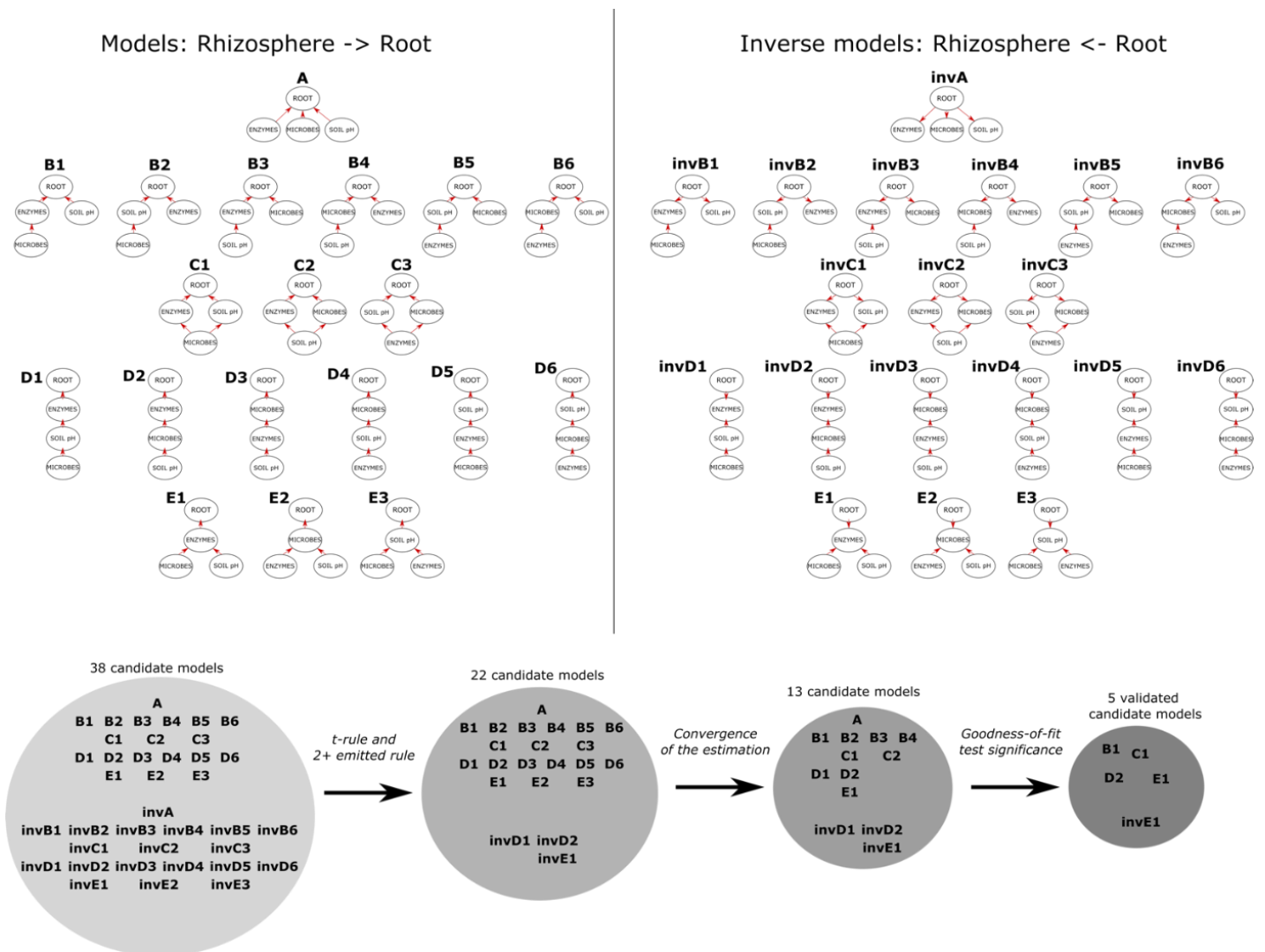


Figure 6.5 : Building and exploration of the causal space. The initial causal space is made by 38 models constructed from the general causality patterns displayed in Figure 6.4 and the ambiguities on causal relationships between the Root/Rhizosphere attributes and within the Rhizosphere attribute. Exploration of the causal space reduces the causal space to the five validated models (B1, C1, D2, E1 and invE1).

Following our general framework, we first check for statistical identifiability of the 38 initial models by applying the t-rule and the 2+ emitted rule. While t-rule was satisfied by all models, few models did not respect the 2+ emitted rule thus reducing the space of causality patterns to 22 models (see Figure 6.5).

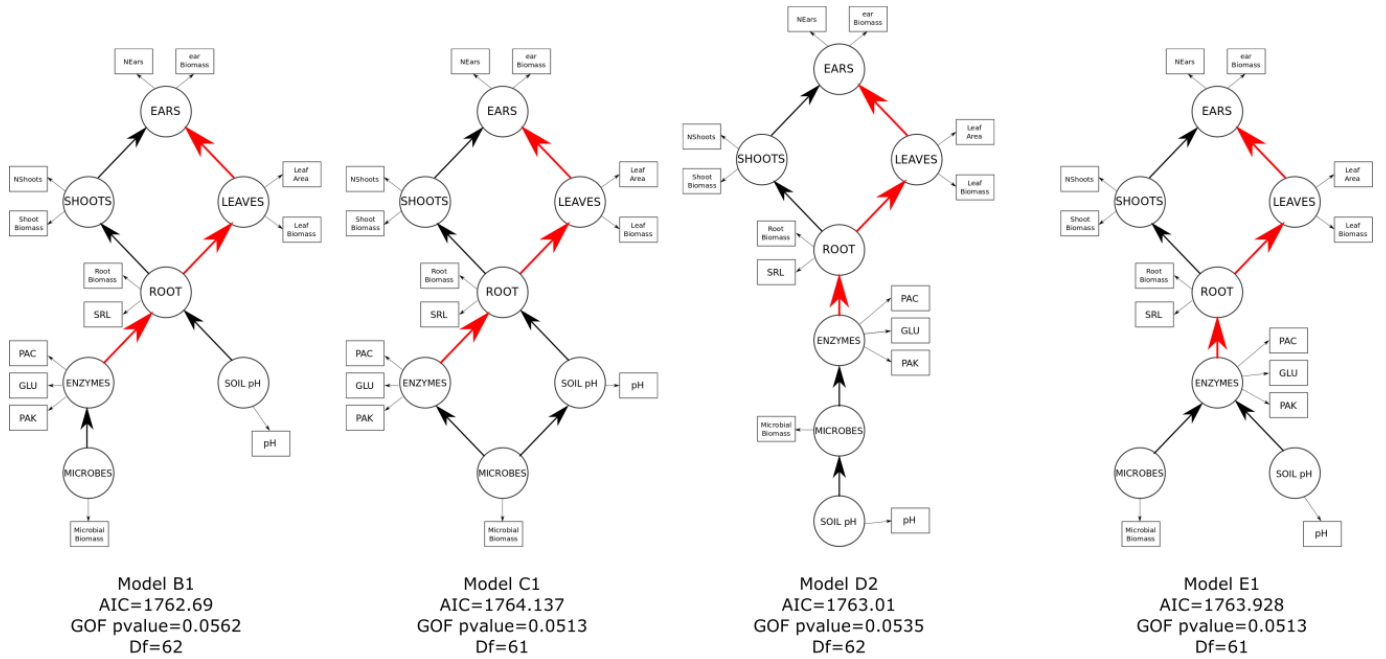
3.3.2. *Parameters estimation*

At first, we fixed the scale of each latent variable by setting their variance to 1. Then, each model was estimated using the sem function from the R package lavaan (version 0.6-10). Unfortunately, 9 models did not reach convergence in the estimation procedure, thus leading to reduce the set of acceptable candidate models to 13 models (see Figure 6.5).

3.3.3. *Model fit evaluation*

χ^2 -square goodness-of-fit tests were finally performed and we observed that 5 models were not rejected by the data. The set of validated models is therefore composed of 5 Directed Acyclic Graphs (B1, C1, D2, E1 and invE1) as shown in Figure 6.6. By using the net function from the semTools R package (version 0.5-5), it has been verified that none of the five models are equivalent. The corresponding structural equation models are detailed in Figure 6.6 where significant links in the structural part of the model are highlighted in red. We further computed the Akaike Information Criteria of each model in order to provide a ranking in the set of models.

Models: Rhizosphere -> Root



Inverse models: Rhizosphere <- Root

Model invE1
AIC=1762.805
GOF pvalue=0.0629
Df=61

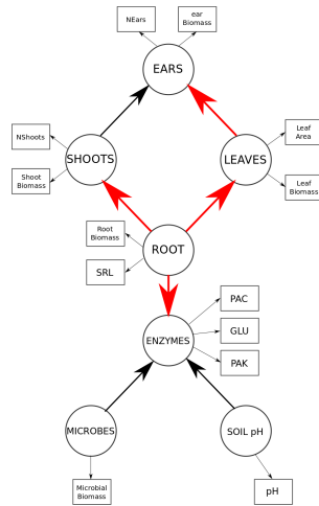


Figure 6.6 : Five validated models (B1, C1, D2, E1 and invE1) issued from the causality space. For each model, the Akaike Information Criteria (AIC), the Goodness Of Fit (GOF) pvalue and the degrees of freedom (Df) are reported. The arrows in red correspond to regression links in the structural model (i.e. between latent variables) that are significantly different from 0.

4. Results and Discussion

Our case study aims to explore causality patterns that drive soil:plant interaction by investigating the role of the Rhizosphere attribute. The decomposition of the Rhizosphere attribute in several latent variables and the consideration of different directions of the causal link between rhizosphere and root attributes has allowed to build an initial conceptual space of causality pattern. Our framework, dedicated to exploratory approach based on Latent Structural Equation Modeling, drastically reduced the causality pattern space by selecting only 5 validated models from the initial set of 38 candidate models. Among validated models, four models exhibited a direction from the Rhizosphere attribute to the Root attribute (models B1, D2, E1 and C1), highlighting a common causal link. This direction can be attributed to a dominant role of Rhizosphere microbiome outcompeting Root attribute. The validated model invE1 is the only one assuming a different causal link from Root to Rhizosphere attribute. According to our framework, it has to be considered as a plausible alternative because of the similar Akaike Information Criteria and Goodness Of Fit p-values (AIC = 1762,805, p-value = 0.0629) to the other ones. We are aware that our controlled device exacerbates the rhizosphere effect on soil ([Mercier et al. 2020](#)), so this model is likely representative compared to the formers. However, invE1 is the only one describing two significant causal links between three Latent Variables (two below ground ROOT and SHOOT) and the aboveground LEAVES as described in Figure 6.6 which deserves attention.

At first glance, these results may be seen as conflicting and confusing, but when we return to the literature, they must be seen as ecologically relevant. Indeed, wheat breeding has mainly focused on resource use acquisition and efficiency in order to convert resources into biomass by selecting foraging plant features (as root architecture or root biomass for B1, D2, E1 and C1) rather than resources mining features (recruitment abilities of beneficial organisms, soil rhizosphere chemistry modifications for invE1) while the latter are not completely shut down. The ROOT and LEAVES causal link was expected due to carbon allocation and was systematically significant for the others models. As statistically relevant, model invE1 suggests to debate of another interpretation dealing with plant strategies to acquire resources and its relation to plant domestication syndrome. Indeed, root, shoot and leaves of plants are considered to be coordinated to maximize efficiency to acquire and use resources, but over the domestication and selection pressure of breeding programs some negative correlations as in shoot:root ratio and plant height ([McGrail and McNear 2021](#)) have been identified ([Roucou et al. 2018](#)). When considering only the four validated models (model B1, D2, E1 and C1), the decomposition of the Rhizosphere attribute is more complex to interpret. Latent variable ENZYMES is the only significant variable related to ROOT whereas other links especially from Latent Variable MICROBES to ENZYMES were expected based on literature ([Bilyera et al. 2021](#)). The latent variable SOIL pH was also expected to be significantly related to MICROBES because this variable determines diversity and

assemblage of soil microbes ([Karimi et al. 2018](#)). In a lesser extent SOIL pH was supposed to be linked to ENZYMES as we estimated soil enzymes activities without distinction of extracellular and microbial enzymes while both are pH-dependent. Using wheat mutants as a tool to test the causality links of the identified patterns could be a perspective ([Shorinola et al. 2019](#)) to better explore the causal patterns identified. However, Akaike Information Criteria ranking is not a decision criteria and Latent Structural Equation Modeling deserves statistical developments that are beyond the scope of this article.

From this simple case application study, we highlighted the different types of debate between experts a Latent Variable Structural Equation modelling can initiate. Considerations about the choice of the manifest variables could obviously determine other candidate models but we kept the model as simple as possible for practical reasons (55 rhizoboxes to manage) crossed with data that can be acquired by different type of experts. Although we could not slice the Gordian knot of the plant:soil interface, we can reasonably speculate from (i) the number of validated models and (ii) decomposition of the rhizosphere component, that ability of this particular cultivar to modify its rhizosphere is weak and highly dependent of the initial soil microbiome. However, since edges in a Structural Equation Model correspond to a correlation effect, it is worth remembering that inferring causality from a Structural Equation Model analysis is more complicated than testing the significance of a link in Diagram Acyclic Graph ([Shibley 2016a](#)). Referring to Pearl's causal ladder ([Pearl and Mc Kenzie 2018](#)), our framework allows to climb the first ladder of causality by identifying significant associations between attributes. To reach to the top ladder of causality, specific causal detection procedures, such as the back door criterion ([Arif and MacNeil 2022](#)), D-separation ([Pearl 2009](#)) or the cyclic causal algorithm ([Glymour et al. 2019](#)) have to be implemented. However, the implementation of such methods remains a challenge in the context of latent structures.

We considered that we have demonstrated the power of the exploratory approach based on Latent Structural Equation Modeling. Moreover, we did not use a plant model as *Arabidopsis thaliana* species frequently used to investigate complex feedback loops ([Meinke et al. 1998](#), [Haichar et al. 2012](#), [Bukowski and Petermann 2014](#)) encouraging applications of Latent Structural Equation Modeling outside the "lab" box. Beyond exploratory approaches, we are also confident that Latent Structural Equation Modeling is a mediation tool that deserves participative approaches to contribute to the transformation of our socio-ecological systems in order to face the numerous urgent crisis we encounter.

5. References

- Aitkenhead, M. 2020. Modelling Nature-based Solutions from Soil Ecosystem Services. *in* N. Sang, editor. *Modelling Nature-Based Solutions: Integrating Computational and Participatory Scenario Modelling for Environmental Management and Planning*. Cambridge University Press <https://doi.org/10.1017/9781108553827>
- Allison, P. D. 2003. Missing data techniques for structural equation modeling. *J Abnorm Psychol* **112**:545-557. <https://doi.org/10.1037/0021-843X.112.4.545>
- Antoninka, A., P. B. Reich, and N. C. Johnson. 2011. Seven years of carbon dioxide enrichment, nitrogen fertilization and plant diversity influence arbuscular mycorrhizal fungi in a grassland ecosystem. *New Phytologist* **192**:200-214. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03776.x>
- Arif, S., and M. A. MacNeil. 2022. Predictive models aren't for causal inference. *Ecology Letters* **25**:1741-1745. <https://doi.org/10.1111/ele.14033>
- Asparouhov, T., and B. Muthen. 2019. Latent Variable Centering of Predictors and Mediators in Multilevel and Time-Series Models. *Structural Equation Modeling-a Multidisciplinary Journal* **26**:119-142. <https://doi.org/10.1080/10705511.2018.1511375>
- Bilyera, N., X. Zhang, P. Duddek, L. Fan, C. C. Banfield, S. Schlüter, A. Carminati, A. Kaestner, M. A. Ahmed, Y. Kuzyakov, M. A. Dippold, S. Spielvogel, and B. S. Razavi. 2021. Maize genotype-specific exudation strategies: An adaptive mechanism to increase microbial activity in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry* **162**:108426. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108426>
- Bollen, K. A. 1989. Structural Equation Models with Observed Variables. Pages 80-150 *Structural Equations with Latent Variables*. <https://doi.org/10.1002/9781118619179.ch4>
- Bollen, K. A., and W. R. Davis. 2009. Causal Indicator Models: Identification, Estimation, and Testing. *Structural Equation Modeling: A Multidisciplinary Journal* **16**:498-522. <https://doi.org/10.1080/10705510903008253>
- Bukowski, A. R., and J. S. Petermann. 2014. Intraspecific plant–soil feedback and intraspecific overyielding in *Arabidopsis thaliana*. *Ecology and Evolution* **4**:2533-2545. <https://doi.org/10.1002/ece3.1077>
- Cheviron, N., V. Grondin, C. Marraud, F. Poiroux, I. Bertrand, J. Abadie, P. Pandard, W. Riah-Anglet, C. Dubois, S. Malý, C. R. Marques, I. V. Asenjo, A. Alonso, D. M. Díaz, and C. Mougin. 2022. Inter-laboratory validation of an ISO test method for measuring enzyme activities in soil samples using colorimetric substrates. *Environmental Science and Pollution Research* **29**:29348-29357. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17173-3>
- Edwards, J. R., and R. P. Bagozzi. 2000. On the nature and direction of relationships between constructs and measures. *Psychol Methods* **5**:155-174. <https://doi.org/10.1037/1082-989X.5.2.155>
- Eisenhauer, N., M. A. Bowker, J. B. Grace, and J. R. Powell. 2015. From patterns to causal understanding: Structural equation modeling (SEM) in soil ecology. *Pedobiologia* **58**:65-72. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2015.03.002>
- Fan, Y., J. Chen, G. Shirkey, R. John, S. R. Wu, H. Park, and C. Shao. 2016. Applications of structural equation modeling (SEM) in ecological studies: an updated review. *Ecological Processes* **5**:19. <https://doi.org/10.1186/s13717-016-0063-3>
- Galiano, L., J. Martínez-Vilalta, and F. Lloret. 2011. Carbon reserves and canopy defoliation determine the recovery of Scots pine 4 yr after a drought episode. *New Phytologist* **190**:750-759. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03628.x>
- Garrido, M., S. K. Hansen, R. Yaari, and H. Hawlena. 2022. A model selection approach to structural equation modelling: A critical evaluation and a road map for ecologists. *Methods in Ecology and Evolution* **13**:42-53. <https://doi.org/10.1111/2041-210x.13742>
- Glymour, C., K. Zhang, and P. Spirtes. 2019. Review of Causal Discovery Methods Based on Graphical Models. *Frontiers in Genetics* **10**. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00524>

- Godlee, J. L., C. M. Ryan, D. Bauman, S. J. Bowers, J. M. B. Carreiras, A. V. Chisingui, J. P. G. M. Cromsigt, D. J. Druce, M. Finckh, F. M. Gonçalves, R. M. Holdo, S. Makungwa, I. M. McNicol, E. T. A. Mitchard, A. Muchawona, R. Revermann, N. S. Ribeiro, A. Siampale, S. Syampungani, J. J. Tchamba, H. G. Tripathi, J. Wallenfang, M. te Beest, M. Williams, and K. G. Dexter. 2021. Structural diversity and tree density drives variation in the biodiversity–ecosystem function relationship of woodlands and savannas. *New Phytologist* **232**:579-594. <https://doi.org/10.1111/nph.17639>
- Gomer, B., G. Jiang, and K.-H. Yuan. 2019. New Effect Size Measures for Structural Equation Modeling. *Structural Equation Modeling: A Multidisciplinary Journal* **26**:371-389. <https://doi.org/10.1080/10705511.2018.1545231>
- Gomez, J. M., and R. Zamora. 2000. Spatial variation in the selective scenarios of *Hormathophylla spinosa* (Cruciferae). *American Naturalist* **155**:657-668. <https://doi.org/10.1086/303353>
- Grace, J. B., T. M. Anderson, H. Olf, and S. M. Scheiner. 2010. On the specification of structural equation models for ecological systems. *Ecological Monographs* **80**:67-87. <https://doi.org/10.1890/09-0464.1>
- Grace, J. B., T. M. Anderson, E. W. Seabloom, E. T. Borer, P. B. Adler, W. S. Harpole, Y. Hautier, H. Hillebrand, E. M. Lind, M. Pärtel, J. D. Bakker, Y. M. Buckley, M. J. Crawley, E. I. Damschen, K. F. Davies, P. A. Fay, J. Firn, D. S. Gruner, A. Hector, J. M. H. Knops, A. S. MacDougall, B. A. Melbourne, J. W. Morgan, J. L. Orrock, S. M. Prober, and M. D. Smith. 2016. Integrative modelling reveals mechanisms linking productivity and plant species richness. *Nature* **529**:390-393. <https://doi.org/10.1038/nature16524>
- Haichar, F. e. Z., M.-A. Roncato, and W. Achouak. 2012. Stable isotope probing of bacterial community structure and gene expression in the rhizosphere of *Arabidopsis thaliana*. *Fems Microbiology Ecology* **81**:291-302. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01345.x>
- Heath, J. J., A. Kessler, E. Woebbe, D. Cipollini, and J. O. Stireman. 2014. Exploring plant defense theory in tall goldenrod, *Solidago altissima*. *New Phytologist* **202**:1357-1370. <https://doi.org/10.1111/nph.12755>
- Henze, N., and B. Zirkler. 1990. A class of invariant consistent tests for multivariate normality. *Communications in Statistics - Theory and Methods* **19**:3595-3617. <https://doi.org/10.1080/03610929008830400>
- Iriondo, J., M. a. Albert, and A. Escudero. 2003. Structural equation modelling: An alternative for assessing causal relationships in threatened plant populations. *Biological Conservation* **113**:367-377. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(03\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(03)00129-0)
- Karimi, B., S. Terrat, S. Dequiedt, N. P. A. Saby, W. Horrigue, M. Lelièvre, V. Nowak, C. Jolivet, D. Arrouays, P. Wincker, C. Cruaud, A. Bispo, P.-A. Maron, N. C. P. Bouré, and L. Ranjard. 2018. Biogeography of soil bacteria and archaea across France. *Science Advances* **4**:eaat1808. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aat1808>
- Lancashire, P. D., H. Bleiholder, T. Vandenboom, P. Langeluddeke, R. Stauss, E. Weber, and A. Witzemberger. 1991. A uniform decimal code for growth-stages of crops and weeds. *Annals of Applied Biology* **119**:561-601. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1991.tb04895.x>
- Lobet, G., L. Pages, and X. Draye. 2011. A Novel Image-Analysis Toolbox Enabling Quantitative Analysis of Root System Architecture. *Plant Physiology* **157**:29-39. <https://doi.org/10.1104/pp.111.179895>
- Mai, Y., Z. Zhang, and Z. Wen. 2018. Comparing Exploratory Structural Equation Modeling and Existing Approaches for Multiple Regression with Latent Variables. *Structural Equation Modeling: A Multidisciplinary Journal* **25**:737-749. <https://doi.org/10.1080/10705511.2018.1444993>
- Mardia, K. V. 1974. Applications of Some Measures of Multivariate Skewness and Kurtosis in Testing Normality and Robustness Studies. *Sankhyā: The Indian Journal of Statistics, Series B (1960-2002)* **36**:115-128. <http://www.jstor.org/stable/25051892>
- Marsh, H. W., Z. L. Wen, K. T. Hau, and B. Nagengast. 2013. Structural equation models of latent interaction and quadratic effects. Pages 267-308 *in* G. R. Hancock and R. O. Mueller, editors.

- Structural Equation Modeling: A Second Course, Second Edition. IAP Information Age Publishing. <https://psycnet.apa.org/record/2014-01991-007>
- McGrail, R. K., and D. H. McNear. 2021. Two centuries of breeding has altered root system architecture of winter wheat. *Rhizosphere* **19**:100411. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100411>
- Meinke, D. W., J. M. Cherry, C. Dean, S. D. Rounsley, and M. Koornneef. 1998. *Arabidopsis thaliana*: a model plant for genome analysis. *Science* **282**:662, 679-682. <https://doi.org/10.1126/science.282.5389.662>
- Mercier, A., L. Mignerot, N. Hennion, K. Gravouil, B. Porcheron, M. Durand, L. Maurousset, Y. Héchard, J. Bertaux, T. Ferreira, B. Lauga, R. Lemoine, and N. Pourtau. 2020. Growth of *Arabidopsis thaliana* in rhizobox culture system evaluated through the lens of root microbiome. *Plant and Soil* **455**:467-487. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04650-w>
- Munoz-Ucros, J., M. J. Zwetsloot, C. Cuellar-Gempeler, and T. L. Bauerle. 2021. Spatiotemporal patterns of rhizosphere microbiome assembly: From ecological theory to agricultural application. *Journal of Applied Ecology* **58**:894-904. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13850>
- Pearl, J. 2009. Introduction to Probabilities, Graphs, and Causal Models. Pages 1-40 in J. Pearl, editor. *Causality*. Cambridge University Press, Cambridge. <https://www.cambridge.org/core/books/causality/introduction-to-probabilities-graphs-and-causal-models/B3A69E3E1740635F7AFD95F099040A7E>
- Pearl, J., and D. Mc Kenzie. 2018. The ladder of causation. in J. Pearl and D. Mc Kenzie, editors. *The book of why*. Basic Books. <https://www.basicbooks.com/titles/judea-pearl/the-book-of-why/9781541698963/>
- Pulleman, M., R. Creamer, U. Hamer, J. Helder, C. Pelosi, G. Peres, and M. Rutgers. 2012. Soil biodiversity, biological indicators and soil ecosystem services-an overview of European approaches. *Current Opinion in Environmental Sustainability* **4**:529-538. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2012.10.009>
- Roucou, A., C. Violle, F. Fort, P. Roumet, M. Ecartot, and D. Vile. 2018. Shifts in plant functional strategies over the course of wheat domestication. **55**:25-37. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13029>
- Rubin, R. L., G. W. Koch, A. Martinez, R. L. Mau, M. A. Bowker, and B. A. Hungate. 2018. Developing climate-smart restoration: Can plant microbiomes be hardened against heat waves? *Ecological Applications* **28**:1594-1605. <https://doi.org/10.1002/eap.1763>
- Schob, C., R. M. Callaway, F. Anthelme, R. W. Brooker, L. A. Cavieres, Z. Kikvidze, C. J. Lortie, R. Michalet, F. I. Pugnaire, S. Xiao, B. H. Cranston, M. C. Garcia, N. R. Hupp, L. D. Llambi, E. Lingua, A. M. Reid, L. Zhao, and B. J. Butterfield. 2014. The context dependence of beneficiary feedback effects on benefactors in plant facilitation. *New Phytologist* **204**:386-396. <https://doi.org/10.1111/nph.12908>
- Shipley, B. 1997. *Exploratory Path Analysis with Applications in Ecology and Evolution*. The American Naturalist **149**:1113-1138. <https://doi.org/10.1086/286041>
- Shipley, B. 2016a. Exploration, discovery and equivalence. Pages 221-272 in B. Shipley, editor. *Cause and Correlation in Biology: A User's Guide to Path Analysis, Structural Equations and Causal Inference with R*. Cambridge University Press, Cambridge. <https://www.cambridge.org/core/books/cause-and-correlation-in-biology/exploration-discovery-and-equivalence/AB5BA39C8D12F8F1A8638EC22624568E>
- Shipley, B. 2016b. From cause to correlation and back. Pages 17-55 in B. Shipley, editor. *Cause and Correlation in Biology: A User's Guide to Path Analysis, Structural Equations and Causal Inference with R*. Cambridge University Press, Cambridge. <https://www.cambridge.org/core/books/cause-and-correlation-in-biology/from-cause-to-correlation-and-back/A4D26B2732E23D29AAA6D0762224B6F9>
- Shipley, B. 2016c. Preface. Pages xi-xii in B. Shipley, editor. *Cause and Correlation in Biology: A User's Guide to Path Analysis, Structural Equations and Causal Inference with R*. Cambridge University Press, Cambridge. <https://www.cambridge.org/core/books/cause-and-correlation-in-biology/preface/550C4327967D46F1967D0F24B85768B8>

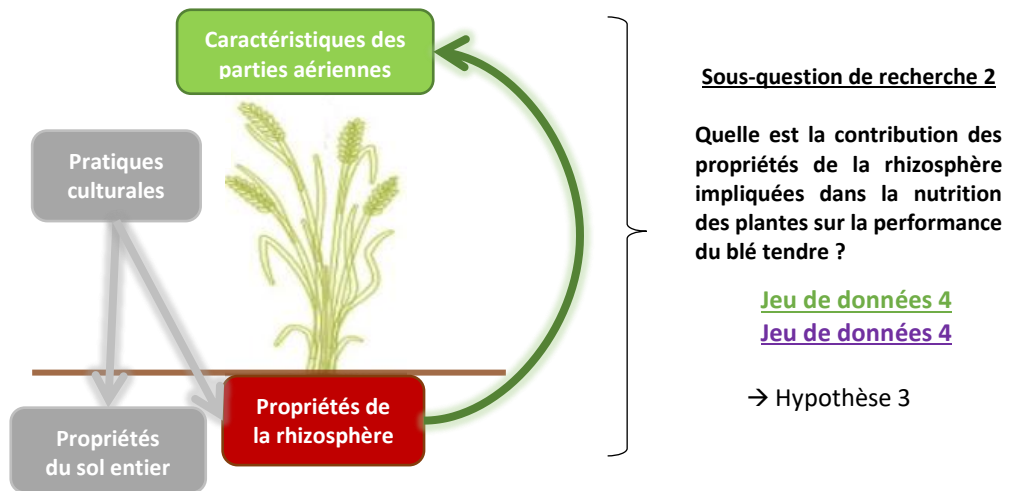
- Shipley, B. 2016d. The structural equation model. Pages 153-187 *in* B. Shipley, editor. Cause and Correlation in Biology: A User's Guide to Path Analysis, Structural Equations and Causal Inference with R. Cambridge University Press, Cambridge. <https://www.cambridge.org/core/books/cause-and-correlation-in-biology/structural-equation-model/5CCD73A664D0B30144F8CED3BE4C3AB2>
- Shorinola, O., R. Kaye, G. Golan, Z. Peleg, S. Kepinski, and C. Uauy. 2019. Genetic Screening for Mutants with Altered Seminal Root Numbers in Hexaploid Wheat Using a High-Throughput Root Phenotyping Platform. *G3 Genes|Genomes|Genetics* **9**:2799-2809. <https://doi.org/10.1534/g3.119.400537>
- Trivedi, P., J. E. Leach, S. G. Tringe, T. Sa, and B. K. Singh. 2020. Plant–microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nature Reviews Microbiology* **18**:607-621. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0412-1>
- Tu, Y.-K. 2012. Directed Acyclic Graphs and Structural Equation Modelling. Pages 191-203 *in* Y.-K. Tu and D. C. Greenwood, editors. *Modern Methods for Epidemiology*. Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-3024-3_11
- Wu, J., R. G. Joergensen, B. Pommerening, R. Chaussod, and P. C. Brookes. 1990. Measurement of soil microbial biomass C by fumigation extraction - an automated procedure *Soil Biology & Biochemistry* **22**:1167-1169. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(90\)90046-3](https://doi.org/10.1016/0038-0717(90)90046-3)
- Yu, H. X., J. J. Le Roux, Z. Y. Jiang, F. Sun, C. L. Peng, and W. H. Li. 2021. Soil nitrogen dynamics and competition during plant invasion: insights from *Mikania micrantha* invasions in China. *New Phytologist* **229**. <https://doi.org/10.1111/nph.17125>
- Yuan, K.-H., and X. Zhong. 2008. 8. Outliers, Leverage Observations, and Influential Cases in Factor Analysis: Using Robust Procedures to Minimize Their Effect. *Sociological Methodology* **38**:329-368. <https://doi.org/10.1111/j.1467-9531.2008.00198.x>

Chapitre 7

Analyse multi-échelle des modèles
d'équations structurales à variables
latentes d'un système sol-plante

Le dernier chapitre de cette thèse présente les résultats d'une analyse multi-échelle de la modélisation par équations structurales à variables latentes appliquée au **jeu de données 3** collecté en conditions contrôlées et au **jeu de données 4** collecté sur la parcelle agricole de l'essai BIODIVERSYSTEM.

Les résultats de ce chapitre ont été présentés au Congrès International de Sciences du Sol (Glasgow, Ecosse, 2022 : « Testing the potential causal relationships involved in a plant-soil system using a multi-scale approach » poster)



Résumé

La production de connaissances actionnables repose sur l'identification de structures causales permettant de représenter un système d'étude dans une approche multivariée, qui est généralement limitée par les contraintes expérimentales associées à l'expérimentation sur le terrain. En particulier, l'utilisation de la modélisation par équations structurales à variables latentes pour étudier un système sol-plante nécessite une simplification permettant d'identifier des structures causales non rejetées par les données expérimentales. Pour cela, j'ai développé une méthode d'analyse multi-échelle afin d'identifier si des structures causales communes ne sont pas rejetées avec des données collectées dans deux conditions d'expérimentation bien distinctes : en conditions contrôlées (phytotron) et en parcelle agricole. Les résultats de cette analyse multi-échelle montrent que certaines structures causales ne sont pas rejetées avec les données des deux expérimentations, mais nécessitent une simplification qui limite l'interprétation des résultats obtenus. En effet, le nombre d'observations, au regard de la complexité des modèles (nombre de paramètres), n'a pas permis d'estimer plusieurs modèles testés avec les données de l'expérimentation en parcelle agricole, pourtant déjà simplifiés par rapport à l'expérimentation en conditions contrôlées. Bien que l'interprétation des résultats de la modélisation par équations structurales en parcelle agricole semble limitée, cette analyse multi-échelle a le potentiel d'étudier des systèmes complexes en écologie, en levant certaines contraintes expérimentales associées à l'étude sur le terrain. Cependant, cette méthodologie nécessite une réflexion *a priori* sur la taille d'échantillon, le nombre et le choix des variables mesurées dans le design expérimental.

1. Introduction

Les conclusions apportées par des expérimentations en conditions contrôlées, comme celles du chapitre précédent, sont généralement insuffisantes pour identifier des actions de terrain. Pour permettre la production de connaissances actionnables, ces conclusions doivent être complétées par l'étude du système sol-plante en conditions d'expérimentation sur le terrain, notamment en parcelles agricoles. Cependant, sur le terrain, il est difficile de contrôler la diversité de facteurs biologiques qui peuvent influencer les processus étudiés ([Poorter et al. 2016](#)). De plus, l'acquisition des données sur le terrain est complexe, nécessite des méthodes d'acquisition adaptées aux contraintes du terrain et est généralement contrainte par un nombre d'observations et de variables mesurées plus faible qu'en conditions contrôlées ([Iversen et al. 2017](#), [Freschet et al. 2021](#)). Ainsi, les conditions d'expérimentation sur le terrain rendent particulièrement difficile l'identification de relations causales entre variables au sein d'un système d'étude aussi complexe que la plante et son environnement proche. Dans ce chapitre, je propose une méthode consistant à réaliser une analyse multi-échelle de la modélisation par équations structurales à variables latentes pour représenter le système d'étude sol-plante à partir de deux jeux de données indépendants collectés en conditions contrôlées et en parcelles agricoles. L'expérimentation en conditions contrôlées permet d'étudier un plus grand nombre d'individus caractérisés par un plus grand nombre de variables qu'en conditions d'expérimentation sur le terrain. De plus, l'étude d'un système complexe en conditions contrôlées permet de réduire la variabilité des processus biologiques afin de pouvoir caractériser des relations causales au sein d'un système complexe. Les conditions favorables à la croissance du blé en conditions contrôlées peuvent favoriser l'identification de relations entre variables car certains facteurs climatiques et environnementaux sont contrôlés. Ainsi, l'expérimentation en conditions contrôlées doit permettre de réduire le nombre de variables au maximum pour caractériser le système d'étude et permettre d'identifier des hypothèses causales en conditions de terrain dans une approche parcimonieuse permettant de lever certaines contraintes expérimentales. De plus, les hypothèses causales sont confrontées à des données observées dans deux conditions d'expérimentation différentes, afin de conforter la pertinence de certains schémas causaux pour représenter le système d'étude.

Afin de vérifier la pertinence de cette analyse multi-échelle, une expérimentation a donc été menée sur la parcelle BIODIVERSYSTEM de l'UMR IGEPP afin de collecter des données sur le terrain. Les variables identiques à celles mesurées en conditions contrôlées (phytotron) ont été mesurées sur les échantillons prélevés sur la parcelle d'étude. Afin de limiter au maximum la variabilité entre les jeux de données, la variété de blé, le stade de développement et le type de sol ont été contrôlés dans ces expérimentations. Au final, les données collectées à l'échelle de la plante individuelle et en conditions contrôlées ([jeu de données 3](#)), d'une part, et des données collectées à l'échelle du peuplement végétal

en conditions de terrain (**jeu de données 4**), d'autre part, ont été utilisées pour mener une analyse multi-échelle de la modélisation par équations structurales à variables latentes. L'objectif de mon analyse multi-échelle est d'identifier les structures causales du système d'étude sol-plante qui ne sont rejetées ni par les données en conditions contrôlées, ni par les données en conditions terrain. Pour atteindre cet objectif, j'ai, dans un premier temps, testé sur les données en conditions terrain les modèles identifiés sur les données en conditions contrôlées et obtenus par la méthodologie du chapitre précédent. Puis, dans un second temps, j'ai inversement testé, sur les données collectées en conditions contrôlées, les modèles identifiés sur les données en conditions de terrain.

2. Analyse en parcelle agricole des structures causales identifiées en conditions contrôlées

Dans cette partie, les données issues du chapitre 6 (**jeu de données 3**) sont utilisées pour identifier l'ensemble des structures causales à tester. Les modèles non-rejetés sont ensuite confrontés aux observations du **jeu de données 4**.

2.1. Analyse confirmatoire des modèles issus du chapitre 3

Les modèles structuraux identifiés dans le chapitre 6 (Figure 7.1) ont été confrontés aux données collectées sur le terrain (**jeu de données 4**). Les résultats montrent que les paramètres libres du modèle ne peuvent pas être estimés pour les cinq modèles (Figure 7.2). Dans ce cas de figure, l'étape d'estimation n'a pas convergé ce qui signifie que la méthode du maximum de vraisemblance n'a pas permis d'identifier des paramètres qui minimisent la différence entre les matrices variances-covariances observées et estimées par les modèles. Pourtant, nous pouvons rappeler que ces modèles respectent les règles du t-rule et du 2+ emitted paths. Toutefois, d'autres facteurs sont susceptibles d'expliquer cet échec d'estimation et notamment la taille d'échantillon ([Grace 2006](#), [Jackson 2007](#), [Herzog and Boomsma 2009](#), [Jackson et al. 2013](#), [Hoyle and Gottfredson 2015](#), [Kline 2015](#)).

Chapitre 7

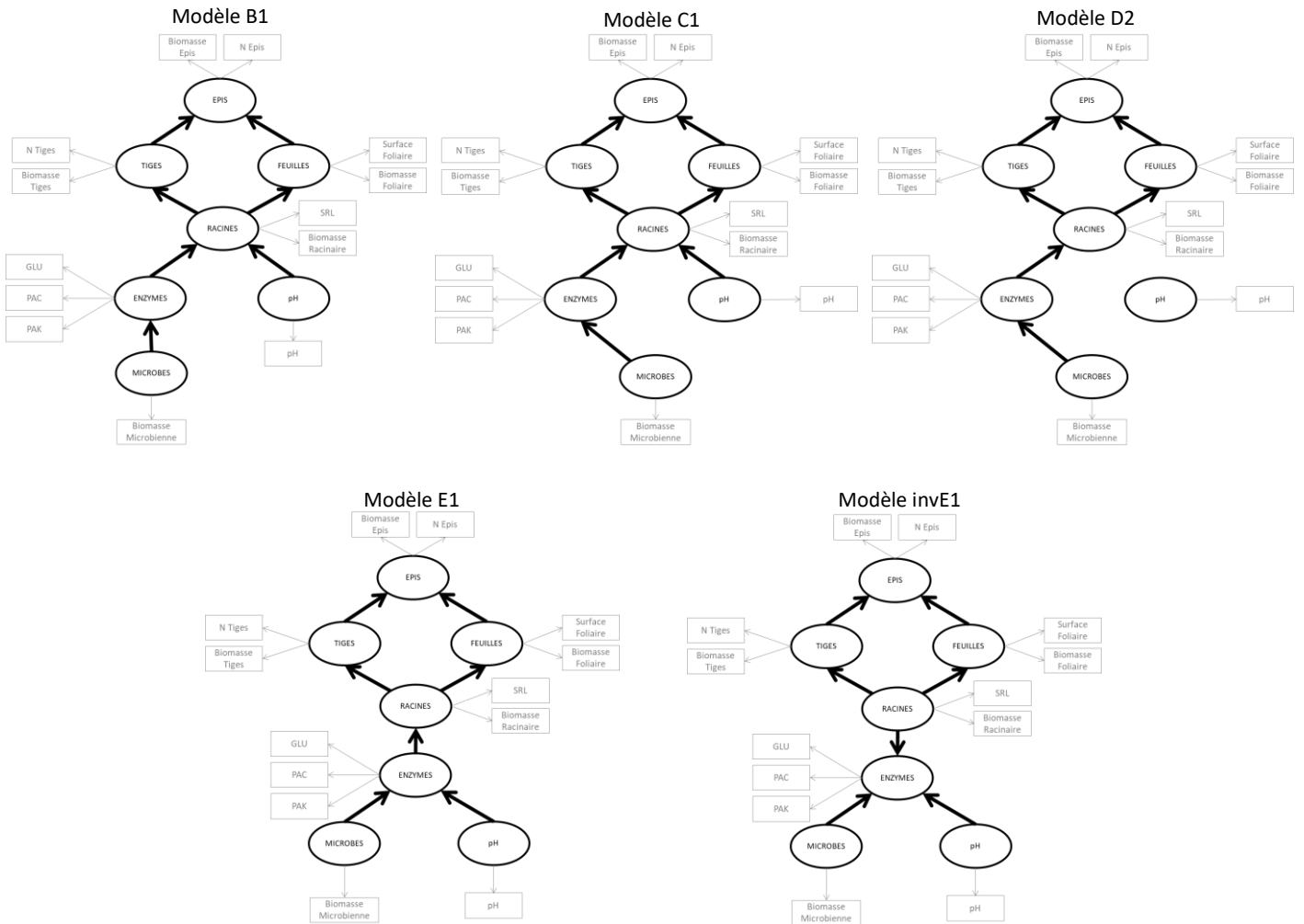


Figure 7.1 : Rappel des schémas causaux retenus grâce à l'utilisation des 54 observations du jeu de données 3.

```

lavaan 0.6-7 did NOT end normally after 1010 iterations
** WARNING ** Estimates below are most likely unreliable

Estimator                               ML
Optimization method                     NLMINB
Number of free parameters                 31

Number of observations                    30

Model Test User Model:

Test statistic                            NA
Degrees of freedom                        NA
  
```

Figure 7.2 : Exemple de sortie R de la fonction `sem()` du package `lavaan`. Ces résultats indiquent que les paramètres n'ont pas été estimés grâce à la méthode du maximum de vraisemblance (ML) et que la statistique de test du χ^2 n'a pas pu être calculée (NA).

2.2. Evaluation de l'effet de la taille d'échantillon

L'hypothèse selon laquelle les erreurs d'estimation des paramètres proviennent de la complexité des modèles pour cette taille d'échantillon a été testée. Dans notre cas d'étude, le nombre d'observations est différent entre les deux expérimentations car les contraintes expérimentales ne nous ont pas permis de collecter le même nombre d'observations sur le terrain et en conditions contrôlées. En parcelle agricole, seules 30 observations ont été réalisées, contre 54 observations en conditions contrôlées. Cependant, le nombre de paramètres à estimer est identique avec 31 ou 32 paramètres libres. Ainsi, une étude par simulation a été réalisée afin d'évaluer l'influence de la taille d'échantillon sur la probabilité que les modèles ne soient pas rejetés par les données afin d'estimer si la complexité des modèles issus du chapitre 6 est trop importante pour pouvoir estimer les paramètres avec seulement 30 observations. Cette étude a été réalisée sur les observations du **jeu de données 3** pour lequel nous savons que les modèles ne sont pas rejetés par l'échantillon composé de 54 observations. **J'ai donc cherché à vérifier l'hypothèse suivante : le nombre d'observations influence l'ajustement des SEMs aux données.** Pour cela, l'effet de la taille d'échantillon a été mis en évidence en étudiant la probabilité d'obtenir un modèle « accepté » par les données en fonction du nombre d'échantillons qui est contrôlé grâce à une étude par simulation. Plusieurs tailles d'échantillons ont été testées (N=20, 25, 30, 35 et 40) avec le **jeu de données 3**. Pour chaque taille d'échantillon, un total de 200 jeux de données sont « simulés » en tirant au hasard N observations parmi les 54 observations initiales du jeu de données. Pour chacun de ces jeux de données simulés, les cinq modèles identifiés dans le cadre de travail du chapitre 6 (modèles B1, C1, D2, E1 et invE1 ; Figure 7.1) sont confrontés aux données et la P valeur relative au test du χ^2 est récupérée. Dans cette étude, trois situations ont été distinguées :

- Le modèle n'est pas rejeté (« Non rejeté ») lorsque la P valeur est supérieure à 0,05.
- Le modèle est « Rejeté » par les données lorsque la P valeur est inférieure à 0,05.
- Le modèle est « Non estimé » lorsque le calcul de la P valeur a échoué car le modèle n'a pas convergé pour trouver une solution d'estimation.

Grâce à ces P valeurs, la fréquence de chaque situation est calculée pour chaque modèle (Figure 7.3).

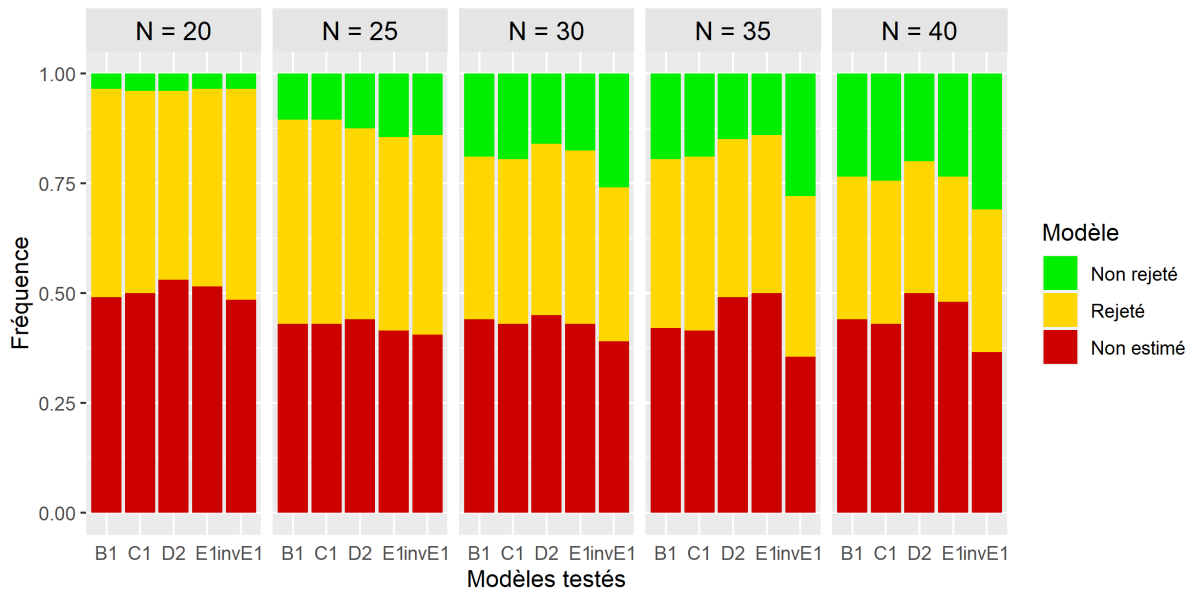


Figure 7.3 : Estimation des probabilités de Non-Rejet, de Rejet et d'échec (Non estimé) pour les 5 schémas structuraux en fonction du nombre d'observations tirées aléatoirement à partir du jeu de données 3.

Les résultats montrent que l'effet de la taille d'échantillon est uniforme quel que soit le modèle considéré. En effet, la fréquence du nombre de modèles acceptés par les données augmente avec le nombre d'observations. Cependant, la fréquence du nombre de modèles acceptés est très faible pour les tailles d'échantillons étudiées. Pour N=30, correspondant au nombre d'observations du **jeu de données 4**, la probabilité de non-rejet est estimée à environ 0,2 pour les modèles B1, C1, D2 et E1 et atteint 0,25 pour le modèle invE1. Cette étude montre que le modèle est trop complexe pour un échantillon de 30 observations, avec une probabilité estimée de 0,5 que le modèle n'arrive pas à ajuster les paramètres. **Ce résultat confirme que la taille d'échantillon des données collectées sur le terrain (N=30) est vraisemblablement trop faible pour permettre une estimation fiable des modèles.**

3. Analyse en conditions contrôlées de modèles sélectionnés en conditions de terrain

Etant donné que les structures causales issues du cadre de travail développé dans le chapitre 6 ne sont pas conservées avec les données collectées sur le terrain, une autre stratégie d'analyse des structures causales est menée. Dans cette partie, les observations issues du **jeu de données 4** sont utilisées pour construire et tester les modèles.

3.1. Application du cadre de travail au jeu de données 4

Dans un premier temps, le cadre de travail développé dans le chapitre 6 a été utilisé afin de construire des modèles adaptés à l'étude du système sol-plante dans une approche exploratoire. La première étape consiste à réaliser une Analyse en Composantes Principales (ACP) permettant d'identifier le nombre de dimensions nécessaires pour représenter le fonctionnement de la rhizosphère et assigner les variables qui contribuent le plus à la construction de chaque dimension. Ainsi, trois VLs sont nécessaires pour représenter la variabilité de la composante RHIZOSPHERE (Figure 7.4) :

- Une VL ENZYMES composée des trois activités enzymatiques PAC, GLU et PAK,
- Une VL BIOMASSE MICROBIENNE composée de la VM Biomasse Microbienne,
- Une VL pH composée de la VM pH.

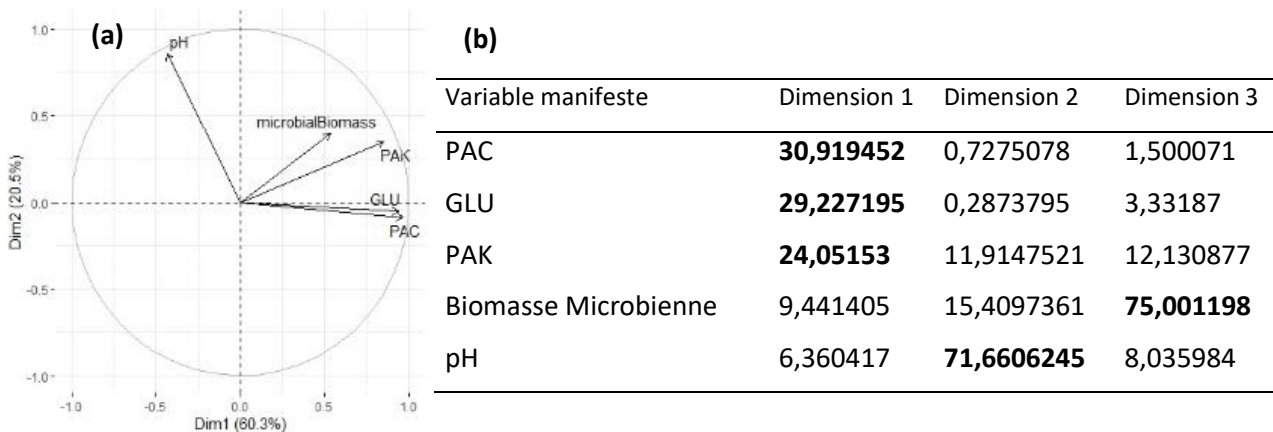


Figure 7.4 : Résultats de l'Analyse en Composantes Principales effectuée sur les variables de la rhizosphère mesurées en parcelle agricole (**jeu de données 4**). (a) graphe des corrélations de l'ACP et (b) contribution de chaque variable à la construction des trois premières dimensions.

La composition de la composante RHIZOSPHERE est donc identique à celle observée dans le **jeu de données 3**, avec trois sous compartiments d'étude. Le modèle de mesure est identique entre les deux jeux de données, tout comme les modèles de structure formulés lors de l'étape de construction des relations causales entre les VLs. Ainsi, la confrontation du jeu de modèles potentiels aux observations du **jeu de données 4** aboutit aux mêmes erreurs d'estimation des paramètres pour l'ensemble des modèles (Figure 7.1). Il apparaît donc essentiel de simplifier les modèles à tester.

3.2. Simplification des modèles structurels à tester

Parmi les sources d'erreur d'estimation des modèles, le lien entre la complexité des modèles et la taille d'échantillon a été identifié comme jouant un rôle important ([Hoyle and Gottfredson 2015](#)). Dans cette partie, j'ai donc cherché à simplifier les modèles afin de réduire le nombre de paramètres libres à estimer par rapport au nombre d'observations limitées dans le **jeu de données 4**. Deux stratégies ont été mise en place pour la simplification des modèles :

- **Stratégie 1** : *La modification du jeu de VMs du modèle par la suppression de VMs sur des critères biologiques et/ou statistiques.* En effet, le nombre de VMs d'un modèle influence l'estimation des paramètres ([Shi et al. 2018](#)). Ainsi, le nombre de paramètres à estimer est réduit grâce à la sélection de VMs à partir des données ou de critères biologiques permettant de réduire la complexité des SEMs.
- **Stratégie 2** : *La modification du modèle structural sans modifier le jeu de VMs.* Pour cela, il est possible de regrouper des VMs au sein de variables latentes, ou alors de modifier la structure latente et réduire le nombre d'hypothèses causales. D'après [Marsh et al. \(1998\)](#), l'augmentation du nombre de VMs par VL peut permettre de résoudre les erreurs d'estimation des paramètres pour de faibles tailles d'échantillon. En effet, l'effet positif de la réduction du nombre de VLs en relation avec le nombre de VMs du modèle mène à une réduction du nombre de paramètres à estimer ([MacCallum and Austin 2000](#)).

Ces deux stratégies ainsi qu'une combinaison des deux sont envisagées dans la suite de ce chapitre.

3.2.1. Simplification de la composante RHIZOSPHERE

❖ Regroupement de VMs

Dans un premier temps, chaque VM est regroupée au sein d'une VL définissant les trois composantes : RHIZOSPHERE, RACINES et AERIEN (Figure 7.5). Ces deux modèles sont rejetés par les données (P valeur < 0,05) et l'estimation des paramètres n'est pas fiable car la variance de certaines VMs est estimée négative. Les résultats sont consignés au fur et à mesure dans la Table 7.1 pour chaque modèle testé avec le **jeu de données 4** pour le sens ENZYMES → RACINES. Les résultats étant similaires pour le sens

ENZYMES ← RACINES puisque ces deux types de modèles sont équivalents, ceux-ci ne sont pas détaillés dans la Table 7.1.

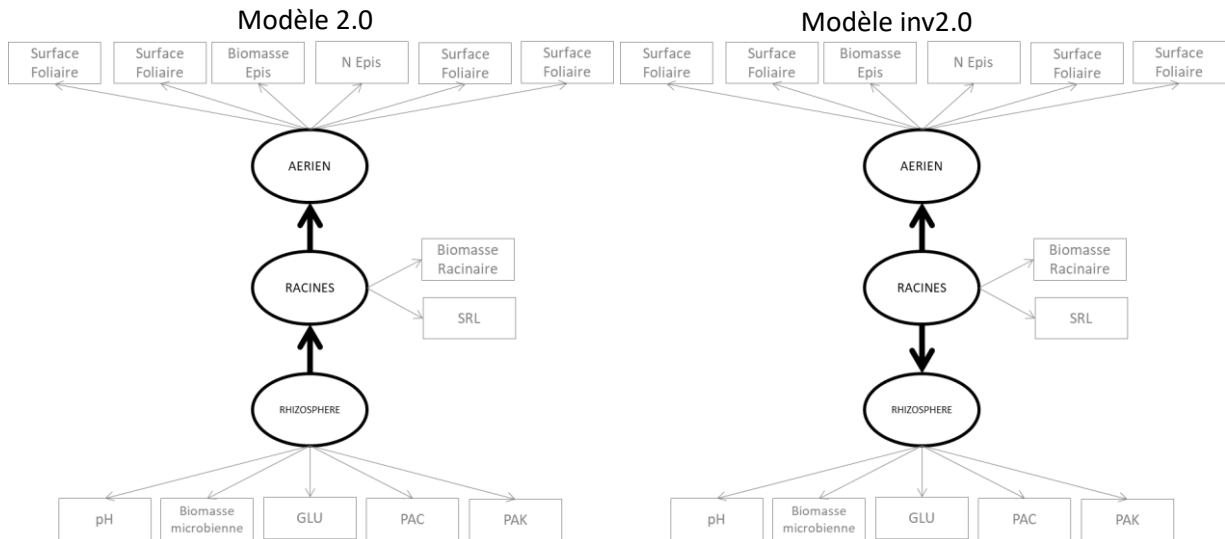


Figure 7.5 : Schémas causaux construits en conservant uniquement une variable latente par composante d'étude pour les sens ENZYMES → RACINES (Modèle 2.0) et ENZYMES ← RACINES (Modèle inv2.0).

Table 7.1 : Tableau synthétique des résultats obtenus grâce la démarche de simplification des modèles testés pour le sens ENZYMES → RACINES.

Modèle	Paramètres libres (t)	Résultat	Statistique de test	Degrés de liberté	P valeur relative au test du χ^2
2.0	28	Rejeté (VAR<0)	157,472	63	4,771283e-10
2.1	27	Non estimé	-	-	-
2.2	24	Rejeté	96,255	55	3,834722e-06
2.3	24	Non estimé	-	-	-
2.4a	18	Rejeté	56,23	18	8,197534e-06
2.4b	18	Non estimé	-	-	-
2.4c	18	Rejeté	67,408	18	1,234115e-07
2.4d	18	Non estimé	-	-	-
2.5a	15	Rejeté	29,113	13	0,006307582
2.5b	15	Rejeté	41,396	13	8,215515e-05
2.5c	15	Non estimé	-	-	-
2.5d	15	Rejeté	46,68	13	1,094025e-05
2.6a	15	Non rejeté	17,546	13	0,1755188
2.6b	15	Non rejeté	10,147	13	0,6819014
2.6c	15	Rejeté	22,746	13	0,04482345
2.6d	15	Non rejeté	20,709	13	0,07889073
2.7	15	Non rejeté	15,608	13	0,2709624
2.8	13	Non rejeté	6,613	8	0,5789307

Notes : BM = BIOMASSE MICROBIENNE ; VAR = Variance

❖ **Suppression de VMs et de VLs**

Ensuite, de nouveaux modèles ont été construits en conservant uniquement les variables corrélées à la première dimension de l'ACP réalisée sur les variables de la rhizosphère du **jeu de données 4** (Figure 7.4). Les activités enzymatiques de la phosphatase acide (PAC), de la phosphatase alcaline (PAK) et de la β -glucosidase (GLU) sont corrélées à la première dimension de l'ACP et sont conservées pour représenter les VMs de la VL associée aux activités enzymatiques, appelée ENZYMES. A l'inverse, les VMs pH et BIOMASSE MICROBIENNE sont supprimées des modèles, et donc les VLs pH et BIOMASSE MICROBIENNE également. Ainsi, deux modèles sont testés avec le **jeu de données 4** (Figure 7.6):

- Le modèle associé au sens ENZYMES \rightarrow RACINES (Modèle 2.1).
- Le modèle associé au sens ENZYMES \leftarrow RACINES (Modèle inv2.1).

Toutefois, la maximisation de la vraisemblance des 2 modèles présentés dans la Figure 7.6 n'a pas convergé et l'estimation s'est donc conclue par un échec, exhibant ainsi une trop forte complexité par rapport à la taille d'échantillon.

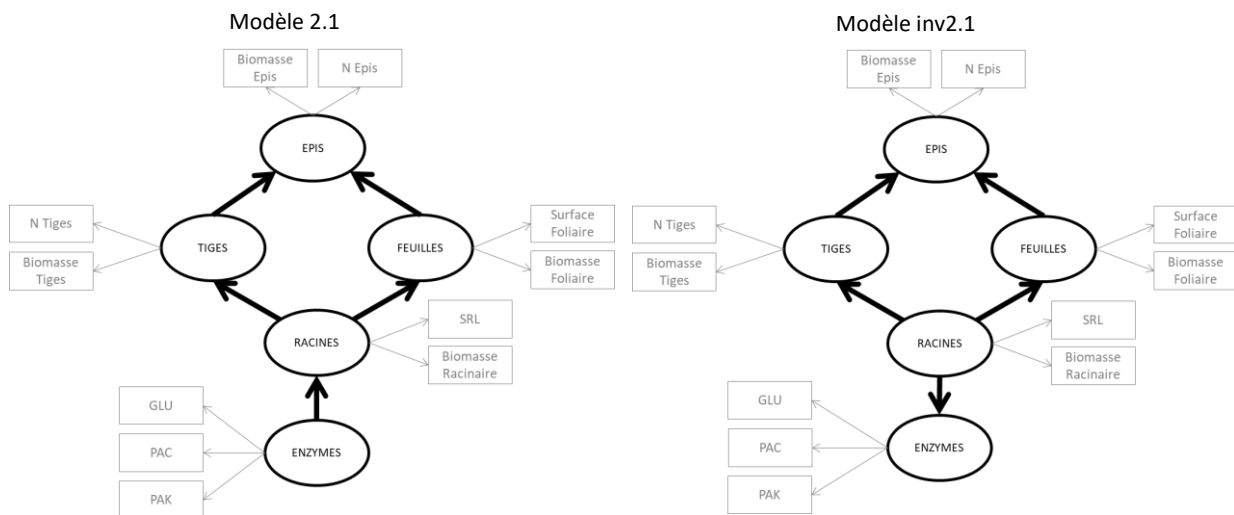


Figure 7.6 : Schémas causaux construits en conservant uniquement la variable latente ENZYMES dans le compartiment de la rhizosphère pour les sens ENZYMES \rightarrow RACINES (Modèle 2.1) et ENZYMES \leftarrow RACINES (Modèle inv2.1).

3.2.2. Première simplification de la composante AERIENNE

Un modèle simplifié regroupant les 11 VMs des modèles 2.1 ou inv2.1 (Figure 7.6) a été construit dans le sens ENZYMES → RACINES (Modèle 2.2 ; Figure 7.7) et ENZYMES ← RACINES (Modèle inv2.2). Ces modèles convergent mais sont rejetés par les données (Table 7.1). Ce résultat indique que la simplification du modèle structural tout en conservant le jeu de VMs dans le modèle permet d'éviter les erreurs d'estimation des paramètres. Cependant, il est nécessaire de justifier la pertinence du regroupement des VMs au sein d'une même VL. Dans notre cas, les VMs sont regroupées par composante d'étude.

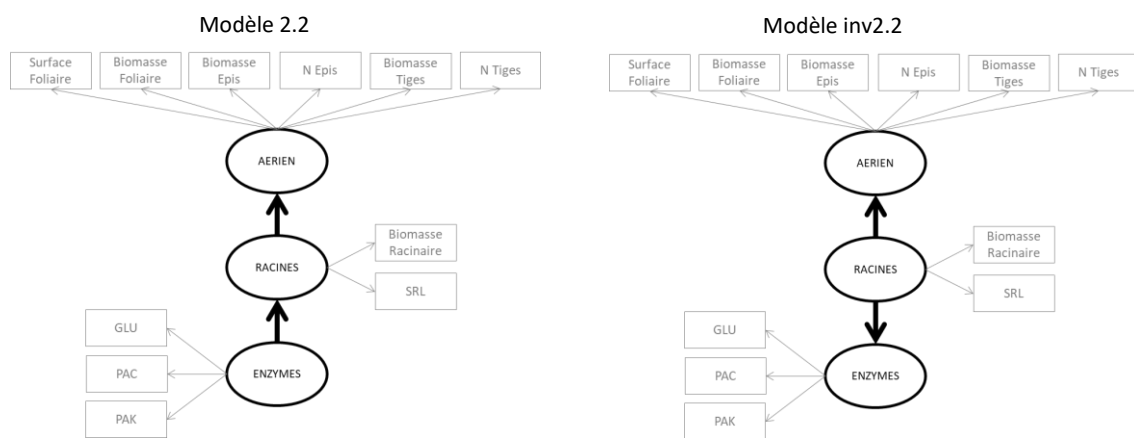


Figure 7.7 : Schémas causaux construits avec une variable latente AERIEN représentée par l'ensemble des variables mesurées sur les épis, les feuilles et les tiges, une variable latente RACINES représentée par la Biomasse Racinaire et la SRL et une variable latente ENZYMES composées des trois enzymes pour les sens ENZYMES → RACINES (Modèle 2.2) et ENZYMES ← RACINES (Modèle inv2.2). Ces modèles sont testés avec le jeu de données 4.

3.2.3. Simplification de la composante RACINES

L'étude du compartiment RACINES montre que la corrélation entre la VM SRL et la VM Biomasse Racinaire est très faible ($r = 0,0936$; P valeur = $0,6228$). Ce constat statistique nous incite à séparer le compartiment RACINES en deux sous-compartiments. Cependant, la séparation en deux sous-compartiments aurait pour effet de rendre les modèles plus complexes ce qui est contraire à notre démarche de simplification des modèles. D'un point de vue expérimental, la méthode de mesure de la VM SRL sur le terrain est imprécise et doit être retirée des modèles. En effet, en conditions contrôlées, la SRL est mesurée à partir de la masse des racines principales et de leurs ramifications. Sur la parcelle agricole, nous n'avons pu collecter les racines avec leurs ramifications car celles-ci se cassaient systématiquement lors de la collecte de sol rhizosphérique. Ainsi, la mesure de SRL ne prend pas en compte la masse des ramifications dans le jeu de données 4 et est potentiellement sur-estimée dans

l'expérimentation en parcelle agricole par rapport à l'expérimentation en conditions contrôlées. Cette variable est donc supprimée de la VL RACINES dans les deux modèles suivants (Figure 7.8).

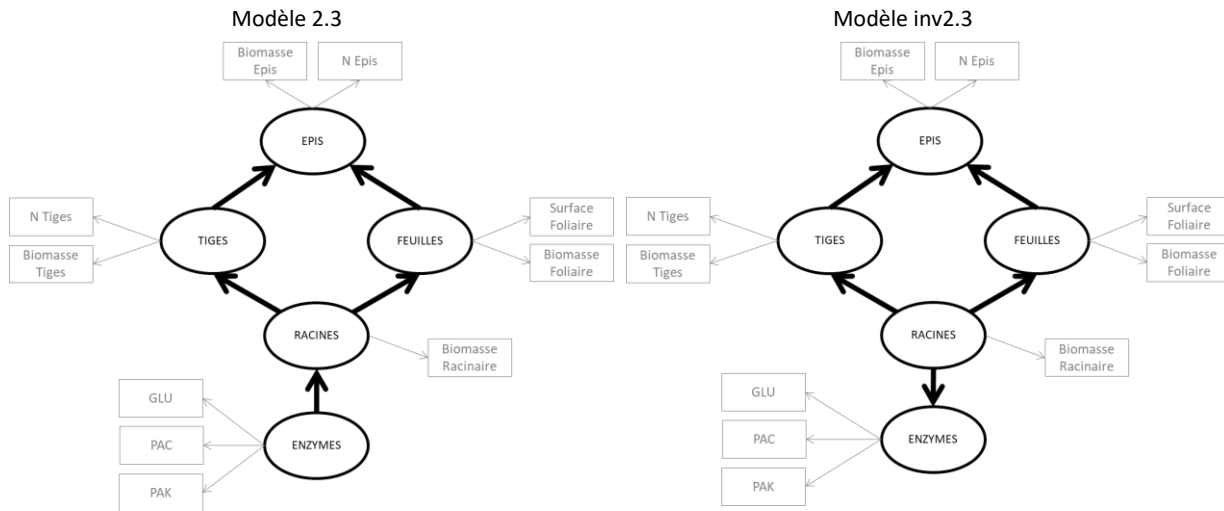


Figure 7.8 :: Schémas causaux construits en supprimant la variable manifeste SRL à la variable latente RACINES pour les sens ENZYMES → RACINES (Modèle 2.3) et ENZYMES ← RACINES (Modèle inv2.3)

Cette nouvelle simplification des modèles testés n'est toujours pas suffisante et l'estimation des paramètres reste en échec pour les deux modèles représentés à la Figure 7.8. En effet, ces modèles ne convergent pas pour estimer les paramètres du modèle.

3.2.4. Deuxième simplification de la composante AERIENNE

❖ Suppression d'une VM pour les VLs FEUILLES et TIGES

Afin de réduire le nombre de paramètres à estimer, une VM est également retirée aux VL TIGES et FEUILLES à partir des deux structures causales précédentes (Figure 7.8). Pour la VL EPIS, aucune VM n'est supprimée afin de respecter la règle du « 2+ emitted path » détaillée dans le chapitre 6. Pour chaque direction causale entre ENZYMES et RACINES, quatre modèles sont construits en supprimant les VMs :

- Surface Foliaire et Biomasse Tiges (Modèles 2.4a et inv2.4a ; Figure 7.9),
- Surface foliaire et N Tiges (Modèles 2.4b et inv2.4b),
- Biomasse foliaire et Biomasse Tiges (Modèles 2.4c et inv2.4c),
- Biomasse foliaire et N Tiges (Modèles 2.4d et inv2.4d).

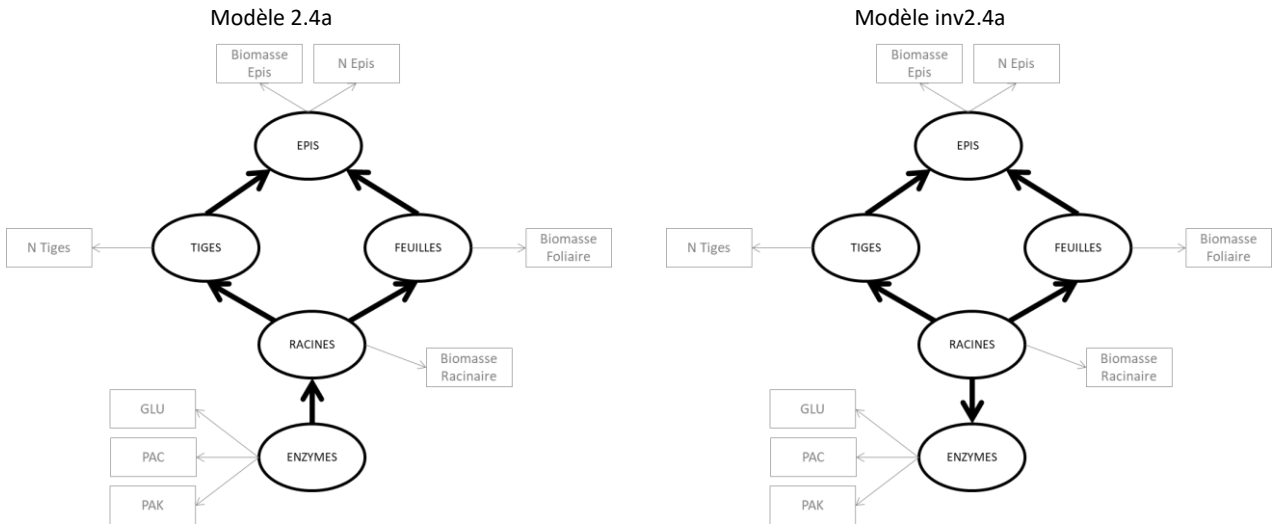


Figure 7.9 : Schémas causaux construits en conservant les variables manifestes N tiges et Biomasse Foliaire pour définir, respectivement, les variables latentes TIGES et FEUILLES pour les sens ENZYMES → RACINES (Modèle 2.4a) et ENZYMES ← RACINES (Modèle inv2.4a).

Les autres modèles ne sont pas présentés car le modèle structural est identique et seuls les modèles de mesures associés aux VLs FEUILLES et TIGES sont modifiés. Nous avons tout d’abord pu constater que cette nouvelle étape de simplification des modèles a permis la convergence de la maximisation de la vraisemblance et ainsi l’estimation des modèles 2.4a, 2.4c, inv2.4a et inv2.4c (Table 7.1). Toutefois, ces modèles sont rejetés par les données collectées sur le terrain avec une P valeur relative au test du χ^2 inférieure au seuil fixé (P valeur < 0,05).

❖ **Suppression de la VL FEUILLES ou TIGES et de sa VM associée**

A partir des modèles précédents (Figure 7.9), une VL du compartiment aérien est supprimée de chaque modèle structural. La VL EPIS n’est pas supprimée car elle correspond à la composante qui permet de renseigner la performance des plantes associée au succès reproducteur. Dans un premier temps, plusieurs modèles sont construits dans les directions causales ENZYMES → RACINES et ENZYMES ← RACINES en supprimant la VL TIGES et en conservant la VM Biomasse Foliaire ou Surface foliaire pour définir la VL FEUILLES (Figure 7.10). Les modèles où la VL FEUILLES est supprimée à la place de la VL TIGES ne sont pas présentés car le modèle structural est identique à l’exception que la VL FEUILLES est remplacée par la VL TIGES. Les résultats montrent que les modèles sont rejetés par les données avec une P valeur < 0,05 relative au test du χ^2 (Table 7.1). Les mêmes résultats sont obtenus avec la suppression de la VL FEUILLES et la VM N Tiges (modèles 2.5d et inv2.5d; Table 7.1). Cependant, le

modèle de mesure associant la VL TIGES à la VM Biomasse Tiges (Modèles 2.5c et inv2.5c) ne permet pas d'estimer les paramètres des modèles (Table 7.1).

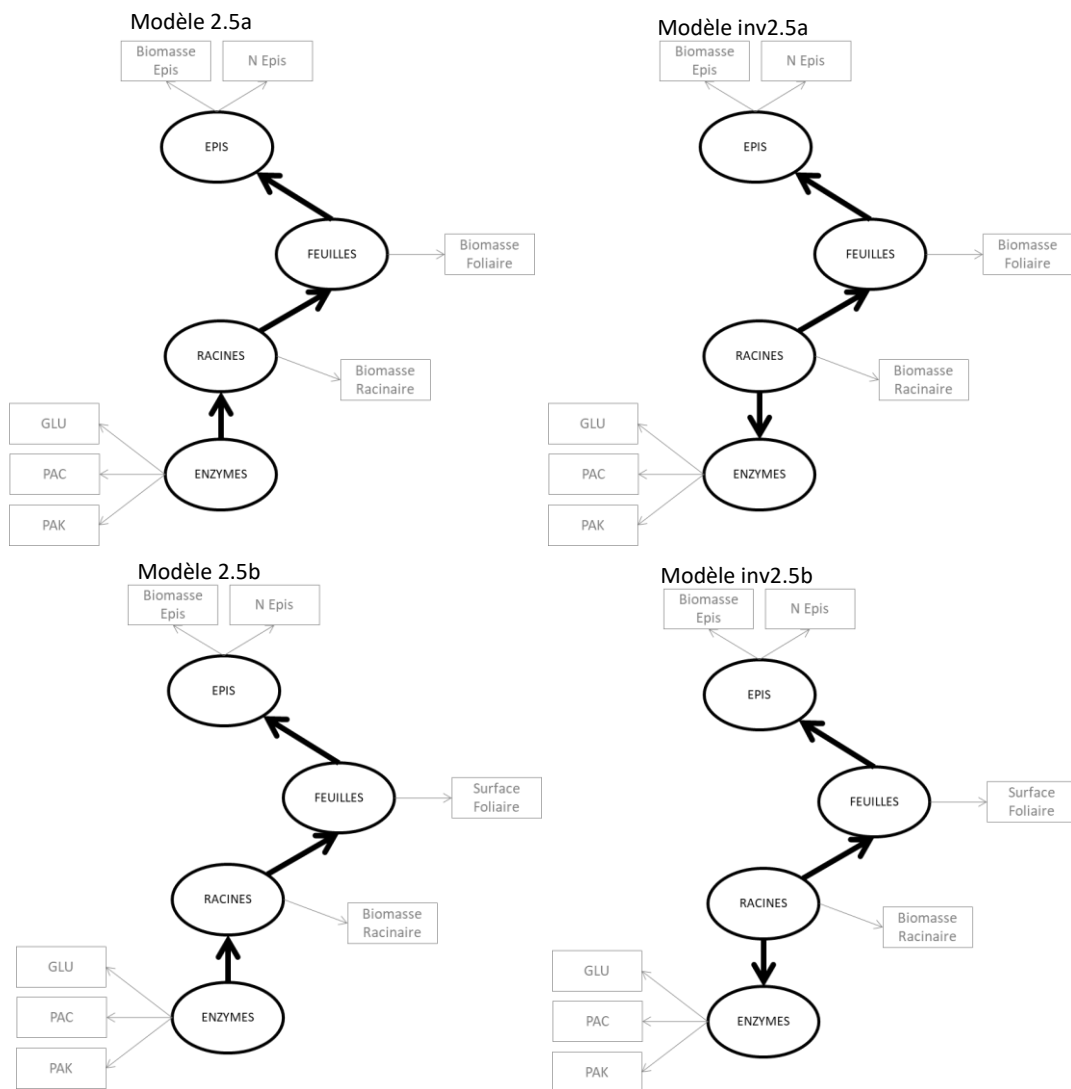


Figure 7.10 : Schémas causaux construits en conservant la variable latente FEUILLES associée à la Biomasse Foliaire (Modèles 2.5a et inv2.5a) ou à la Surface Foliaire (Modèles 2.5b et inv2.5b) et en supprimant la variable latente TIGES pour les sens ENZYMES → RACINES et ENZYMES ← RACINES.

❖ **Suppression de la VL FEUILLES et TIGES et regroupement des VMs**

A partir des modèles 2.5a, 2.5b, 2.5c et 2.5d qui sont rejetés par les données ou non estimés (Figure 7.10 ; Table 7.1), de nouveaux modèles sont construits en modifiant le modèle structural tout en conservant le jeu de VMs. Cela permet de réduire le nombre de coefficients à estimer entre deux VLs. Ainsi, une seule VL permet de caractériser la composante AERIENNE du système d'étude et regroupe les VMs de deux variables. Ainsi, quatre nouveaux modèles simplifiés sont construits à partir des VMs

Biomasse Epis, N Epis et une troisième VM caractéristique des tiges ou des feuilles pour les sens ENZYME → RACINES (Figure 7.11) et ENZYMES ← RACINES.

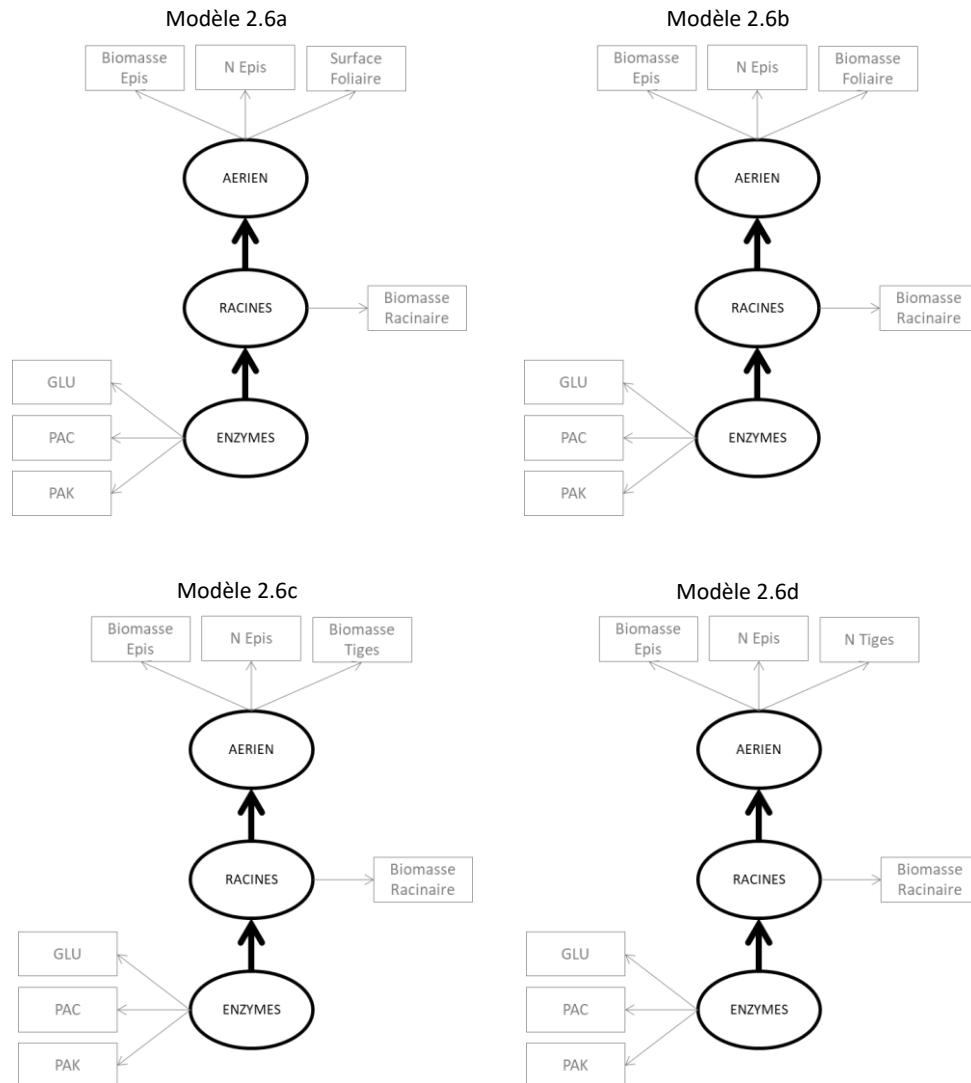


Figure 7.11 : Schémas causaux construits avec une variable latente AERIEN représentée par les variables manifestes de Biomasse Epis, N Epis et l’une des quatre VM Surface Foliaire (Modèle 2.6a), Biomasse Foliaire (Modèle 2.6b), Biomasse Tiges (Modèle 2.6c) et N Tiges (Modèle 2.6d) pour le sens ENZYMES → RACINES. Ces modèles sont testés avec le jeu de données 4.

Ces modèles ne sont pas rejetés par le jeu de données 4 dans les deux sens ENZYMES → RACINES et ENZYMES ← RACINES sauf le modèle 2.6c (Table 7.1). Ainsi, ces modèles non rejetés par les données collectées en parcelle agricole sont testés avec les données collectées en conditions contrôlées. Nous obtenons un résultat analogue avec les données du jeu de données 3 qui ne rejettent aucun des modèles testés avec des P valeurs inférieures à 0,05 (0,495 pour le modèle 2.6a, 0,763 pour le modèle

2.6b, 0,659 pour le modèle 2.6c et 0,231 pour le modèle 2.6d). Lorsque la structure causale d'un modèle n'est pas rejetée par les données des deux expérimentations, il est possible d'étudier plus finement les liens statistiques (coefficients de régression) des relations entre variables latentes. En effet, la valeur des coefficients dépend des contraintes fixées pour spécifier les modèles. Il est donc possible de comparer la valeur des coefficients obtenus grâce à deux jeux de données pour un même modèle car les contraintes restent identiques. Les résultats des coefficients de régression estimés sont présentés pour le modèle 2.6b (Table 7.2). Les résultats sont identiques pour le modèle 2.6b car ces deux modèles sont équivalents. Pour les données en condition de terrain et issues des observations du **jeu de données 4**, nous pouvons remarquer qu'un lien causal est significatif entre les VLs AERIEN et RACINES (P valeur < 0,05) tandis que pour les observations en conditions contrôlées (Table 7.2), cette relation n'est pas significative (P valeur = 0,233). Pour le **jeu de données 3**, l'association entre le compartiment RACINES et le compartiment ENZYMES est significative et négative (P valeur = 0,009), tandis que pour le **jeu de données 4**, la relation entre les VLs ENZYMES et RACINES est négative mais non significative (P valeur = 0,123). Ainsi, certaines structures causales ne sont pas rejetées par les données mais les relations entre VLs ne sont pas conservées entre les deux expérimentations.

Table 7.2 : Résultats des paramètres estimés relatifs aux coefficients de régression calculés pour le modèle 2.6b avec le **jeu de données 4** et le **jeu de données 3**.

Modèle 2.6b	Régression	Coefficient	Erreur standard	Statistique de test	P valeur
Jeu de données 4	AERIEN ~ RACINES	1,600	0,410	3,905	0,000*
	RACINES ~ ENZYMES	-0,300	0,195	-1,541	0,123
Jeu de données 3	AERIEN ~ RACINES	-0,163	0,137	-1,192	0,233
	RACINES ~ ENZYMES	-0,382	0,147	-2,608	0,009*

3.2.5. *Autres simplifications testées*

Deux autres stratégies reposant sur la sélection de variables à partir de critères biologiques ont été menées afin d'identifier des schémas structuraux non rejetés par les deux jeux de données.

❖ **Conservation des VMs aériennes associées à la biomasse des plantes**

Deux nouveaux modèles simplifiés sont construits à partir des VMs Biomasse Epis, Biomasse Foliaire et Biomasse Tiges qui définissent la VL AERIEN. En effet, les variables de biomasse sont continues, contrairement aux variables N Tiges et N Epis qui sont discrètes avec des valeurs relativement faibles qui présentent donc une variabilité importante dans les données. Ainsi, les variables Biomasse Tiges, Biomasse Foliaire et Biomasse Epis sont utilisées pour définir la VL AERIEN (Figure 7.12) qui représente la performance aérienne des plantes car les mesures de biomasse font partie des traits de performance des plantes. Les deux nouveaux modèles simplifiés sont construits pour les sens ENZYME → RACINES et ENZYMES ← RACINES (Figure 7.12).

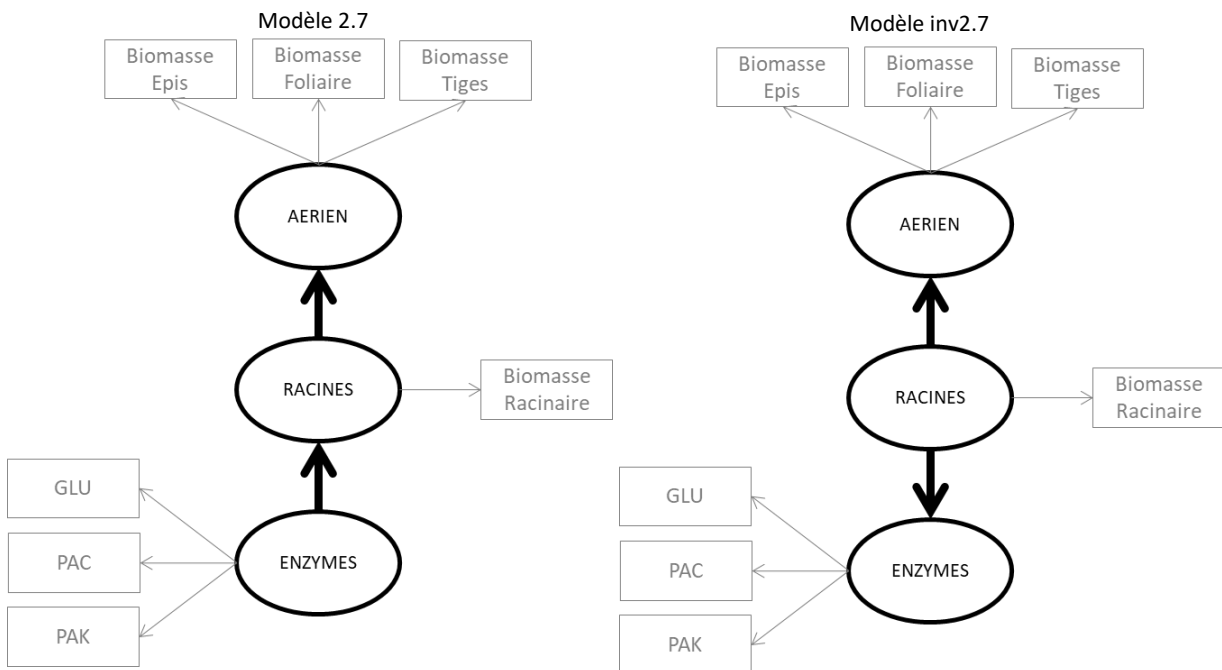


Figure 7.12 : Schémas causaux construits avec une variable latente AERIEN représentée par les variables manifestes de Biomasse Epis, Biomasse Foliaire et Biomasse Tiges pour le sens ENZYMES → RACINES (Modèle 2.7) et le sens ENZYMES ← RACINES (Modèle inv2.7).

Ces modèles ne sont pas rejetés par le **jeu de données 4** (Table 7.1) et le **jeu de données 3** (P valeur = 0,539). Les résultats des coefficients de régression estimés sont présentés pour les modèles 2.7 et inv2.7 (Table 7.3).

Table 7.3 : Résultats des paramètres estimés relatifs aux coefficients de régression calculés pour les modèles 2.7 et inv2.7 avec le jeu de données 4 et le jeu de données 3.

Modèle 2.7	Régression	Coefficient	Erreur standard	Statistique de test	P valeur
Jeu de données 4	AERIEN ~ RACINES	1,769	0,457	3,876	0,000*
	RACINES ~ ENZYMES	-0,300	0,195	-1,541	0,123
Jeu de données 3	AERIEN ~ RACINES	0,135	0,137	0,988	0,323
	RACINES ~ ENZYMES	-0,382	0,147	-2,608	0,009*

La relation entre ENZYMES et RACINES est significative en conditions contrôlées mais ne l'est pas en parcelle agricole. A l'inverse, la relation entre RACINES et AERIEN est significative en parcelle agricole mais pas en conditions contrôlées. Ainsi, ces structures causales ne sont pas rejetées par les données, mais les relations entre VLs ne sont pas conservées entre les deux expérimentations.

❖ **Suppression des deux VLs FEUILLES et TIGES et de leur VM associée**

Dans une dernière étape de simplification des modèles structuraux, le nombre de VLs et de VMs est encore réduit dans la composante AERIENNE, pour ne conserver qu'une seule VL associée aux VMs associées au rendement (N Epis et Biomasse Epis). Ainsi, les deux VLs TIGES et FEUILLES ainsi que leurs VMs sont supprimées des modèles afin de relier directement la VL RACINES à la VL EPIS (Figure 7.13). Les deux nouveaux modèles simplifiés sont construits pour les sens ENZYME → RACINES et ENZYMES ← RACINES (Figure 7.13).

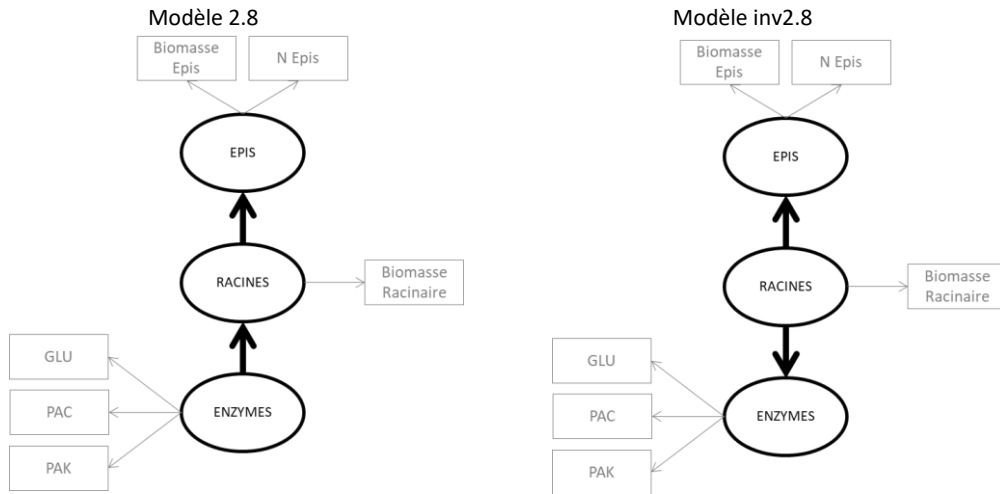


Figure 7.13 : Schémas causaux construits en supprimant les variables latentes TIGES et FEUILLES pour relier directement les variables latentes RACINES et EPIS dans le sens ENZYMES → RACINES (Modèle 2.8) et le sens ENZYMES ← RACINES (Modèle inv2.8). Ces modèles sont testés avec le jeu de données 4.

Nous constatons tout d’abord que les deux modèles ne sont pas rejetés par les données issues des observations du jeu de données 4 (P valeur > 0,05 ; Table 7.1). Nous obtenons un résultat analogue avec les données du jeu de données 3 qui, elles non plus, ne rejettent aucun des deux modèles (P valeur = 0,727). Le non-rejet de la structure globale de causalité nous permet d’étudier plus finement les liens statistiques des relations causales entre les VLs des modèles de structure. Pour les données en condition de terrain et issues des observations du jeu de données 4, nous pouvons remarquer qu’aucun lien causal entre deux VLs n’est significatif, tandis que pour les observations en conditions contrôlées (Table 7.4), la relation causale entre ENZYMES et RACINES est significative (P valeur = 0,009).

Table 7.4 : Résultats des paramètres estimés relatifs aux coefficients de régression calculés pour les modèles 2.8 et inv2.8 avec le jeu de données 4 et le jeu de données 3.

Modèle 2.8	Régression	Coefficient	Erreur standard	Statistique de test	P valeur
Jeu de données 4	EPIS ~ RACINES	2,002	1,01	1,819	0,069
	RACINES ~ ENZYMES	-0,300	0,195	-1,541	0,123
Jeu de données 3	EPIS ~ RACINES	-0,160	0,140	-1,145	0,252
	RACINES ~ ENZYMES	-0,382	0,147	-2,608	0,009*

4. Discussion

4.1. Structure causale et hypothèses causales du système sol-plante

Les résultats de cette étude ont permis d'identifier le fonctionnement global du système sol-plante grâce à des structures causales qui restent valables avec les données des deux conditions d'expérimentation. Ces résultats montrent l'intérêt de l'analyse multi-échelle appliquée à la modélisation par équations structurales pour comparer différentes conditions d'expérimentation et identifier des structures causales communes. En effet, cette approche permet, dans un premier temps, d'étudier le système dans une approche holistique en augmentant le nombre d'observations réalisées et de variables mesurées en conditions contrôlées, pour, dans un second temps, mener une expérimentation en parcelle agricole dans une approche parcimonieuse en simplifiant le système d'étude. L'intérêt de cette approche est de simplifier l'étude du système sol-plante en parcelle agricole, notamment en identifiant les variables les plus informatives pour représenter le système d'étude. En effet, dans les conditions d'expérimentation sur le terrain, il est nécessaire de simplifier le système en réduisant le nombre de variables mesurées car le nombre d'observations est généralement impacté négativement par les contraintes expérimentales associées aux conditions de terrain (moyens à disposition, difficulté des prélèvements, méthodes de mesures plus complexes). Par exemple, les activités enzymatiques de la rhizosphère sont reliées aux traits des plantes, contrairement à la biomasse microbienne ou le pH. Ces variables sont identifiées comme étant pertinentes pour représenter la composante RHIZOSPHERE en conditions de terrain. Ainsi, les modèles 2.6a, 2.6b et 2.6d présentent des structures causales simplifiées qui ne sont pas rejetées par les données collectées en parcelle agricole et qui ont été déterminés à partir de la simplification des modèles issus de l'expérimentation en conditions contrôlées. Cette analyse multi-échelle a donc le potentiel de mener vers la production de connaissances actionnables car elle permet de lever certaines contraintes expérimentales associées à l'expérimentation sur le terrain afin d'étudier la contribution de la rhizosphère à la performance des plantes sur des parcelles agricoles.

Cependant, les résultats obtenus dans cette étude ne permettent pas d'identifier des connaissances actionnables, car (i) de nombreux modèles simplifiés ne sont pas estimés ou rejetés avec les données collectées sur le terrain et (ii) les structures causales communes aux deux expérimentations ont été obtenues en simplifiant les modèles grâce à la suppression de nombreuses VLs et de VMs. Ainsi, les modèles qui restent valables avec les deux jeux de données présentent une structure causale du système d'étude (notamment de la composante aérienne) conservant seulement trois compartiments, ce qui réduit la pertinence de l'approche holistique étudiant les relations entre différentes composantes d'étude. De plus, pour ces modèles simplifiés non rejetés par les données, les résultats

des coefficients de régression entre VLs montrent que la significativité des hypothèses causales varie d'une expérimentation à l'autre. Les mêmes hypothèses causales ne sont donc pas identifiées dans les deux jeux de données. En effet, la relation significative entre la VL ENZYMES et la VL RACINES observée en conditions contrôlées (chapitre 6) n'est jamais retrouvée avec le jeu de données en conditions de terrain. Ce résultat peut traduire un fonctionnement différent des processus biologiques étudiés entre les conditions contrôlées et les conditions de terrain. En effet, l'absence de significativité pour cette hypothèse causale avec les données terrain signifie qu'il n'y a pas de relation causale entre les VLs ENZYMES et RACINES en conditions de terrain. A l'inverse, en conditions contrôlées, l'existence d'une relation causale entre ces VLs n'est pas rejetée en conditions contrôlées. **L'inférence causale est le seul moyen de vérifier la pertinence de cette hypothèse et peut être envisagée expérimentalement pour tester les relations entre variables deux à deux et produire des résultats permettant de produire des connaissances actionnables.**

4.2. Différences entre les jeux de données collectés en conditions contrôlées et en parcelle agricole

Cependant, les différents résultats obtenus entre les modèles confrontés aux données des deux expérimentations peuvent également s'expliquer par les nombreuses contraintes associées aux conditions expérimentales, qui limitent l'interprétation des résultats obtenus.

4.2.1. Effet de la taille d'échantillon sur la modélisation par équations structurales

D'abord, les structures causales non rejetées par les données sont obtenues après plusieurs étapes de simplification des modèles nécessaires afin de réduire la complexité des modèles, c'est-à-dire le nombre de paramètres à estimer, afin d'obtenir des modèles qui permettent d'estimer les paramètres. En effet, seules les structures causales simplifiées ont permis d'estimer les paramètres avec un échantillon composé de 30 observations pour le **jeu de données 4**. Certains travaux suggèrent que le nombre d'observations doit être considéré afin de pouvoir estimer les paramètres du modèle ([Jackson et al. 2013](#), [Hoyle and Gottfredson 2015](#)), bien qu'aucune justification mathématique n'ait été formulée. Ainsi, certaines études suggèrent d'utiliser une taille d'échantillon suffisamment large, avec un minimum de 50 à 100 observations, bien que ces valeurs soient fixées arbitrairement et dépendent de la structure des corrélations entre les variables ([Grace 2006](#)). D'autres études soulignent l'influence du ratio entre le nombre d'observations N et le nombre de paramètres à estimer t qui renseigne sur la complexité du modèle. Ce ratio doit être suffisamment grand pour pouvoir estimer les paramètres ([Jackson 2007](#), [Herzog and Boomsma 2009](#), [Kline 2015](#)). La complexité du modèle par rapport au nombre d'observations semble être l'un des principaux facteurs permettant d'expliquer la non convergence des modèles identifiés dans le chapitre 6 (Figure 7.1). Dans notre cas d'étude,

l'échantillon du **jeu de données 4** composé de 30 observations donne un ratio inférieur à 1 ($N/t = 0,968$ avec $t=31$, $N/t = 0,938$ avec $t=32$), ce qui est probablement insuffisant pour estimer les paramètres de ces modèles. En effet, le paramètre N/t est trop faible avec le **jeu de données 4**, en comparaison avec les recommandations de la littérature sur le sujet ([Grace 2006](#)). Les règles de décision pour fixer la taille d'échantillon sont très difficiles à identifier dans un cas d'étude précis. Les études par simulation peuvent permettre de donner une idée sur la taille d'échantillon en fonction de la complexité des modèles testés, mais ces études sont imparfaites puisqu'elles se basent sur des données simulées et non pas des données réelles ([Jackson et al. 2013](#), [Wolf et al. 2013](#)). La pertinence de l'utilisation de la modélisation par équations structurales à variables latentes en parcelle agricole peut donc être impactée par un design expérimental inadapté. Dans ce chapitre, l'influence de la complexité du modèle et de la taille d'échantillon ont été étudiées et ont permis d'interpréter les résultats des SEMs. Ces facteurs ont pu être identifiés grâce à l'utilisation de démarches statistiques telles que les études par simulation.

4.2.2. Effet d'autres facteurs de variabilité expérimentaux

D'autres facteurs liés à l'expérimentation peuvent être à l'origine des résultats obtenus. D'abord, il est possible que les structures causales et/ou les hypothèses causales ne soient pas vérifiées car la variabilité des données dépend des conditions d'expérimentation ([Freschet et al. 2021](#), [Catford et al. 2022](#)). Dans le phytotron, il est plus facile de contrôler certains facteurs environnementaux tels que les facteurs climatiques (précipitations, température et hygrométrie) et biotiques (interaction plante-plante, etc...) par rapport aux conditions de terrain. En effet, les conditions sont standardisées et optimales à la croissance des plantes dans le phytotron. Ainsi, il est possible de présumer des différences de fonctionnement du système d'étude entre les deux conditions d'expérimentation ([Milcu et al. 2018](#), [Catford et al. 2022](#)). Par exemple, le nombre de tiges est significativement plus grand en conditions contrôlées par rapport à la parcelle agricole, ce qui était attendu puisque les conditions optimales favorisent la croissance des plantes en conditions contrôlées (Figure 7.14). Le pH de la rhizosphère est inférieur en parcelle agricole par rapport aux conditions contrôlées, ce qui peut influencer la diversité et l'activité des communautés microbiennes du sol ([Fierer and Jackson 2006](#), [Rousk et al. 2010](#)). Enfin, certaines corrélations entre variables sont différentes entre les deux expérimentations. En effet, le nombre d'épis est positivement corrélé au nombre de tiges en parcelle agricole, alors que cette relation est négative en conditions contrôlées (Figure 7.14). Ainsi, la structure causale, c'est-à-dire les relations entre VLs, peut être modifiée d'une expérimentation à l'autre.

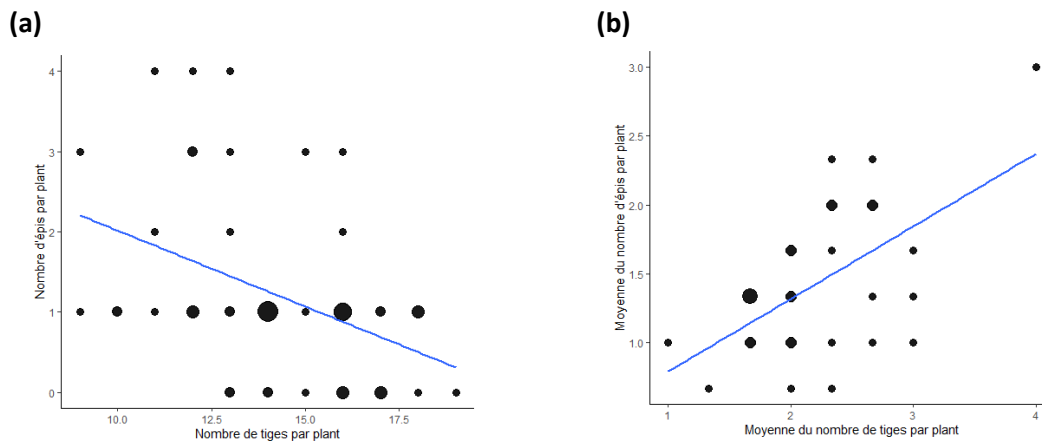


Figure 7.14 : Nuage de points et droite de régression représentant (a) le nombre d'épis par plant en fonction du nombre de tiges par plant pour l'expérimentation en conditions contrôlées et (b) la moyenne du nombre d'épis par plant en fonction de la moyenne du nombre de tiges par plant en parcelle agricole. La taille du point indique le nombre d'observations pour chaque point (de 1 à 8).

La modification du fonctionnement des processus biologiques peut aussi être liée à la variabilité due à des facteurs externes associés à des contraintes expérimentales. En effet, en conditions contrôlées, le substrat est homogène dans le rhizobox, alors qu'en conditions contrôlées, différents horizons du sol sont colonisés par les racines. Contrairement aux conditions de terrain, les racines sont contraintes dans les rhizoboxes, ce qui peut modifier les processus biologiques des plantes, et notamment exacerber l'effet rhizosphère car les racines ont été contraintes dans un volume fixe et ont colonisé tout le volume du rhizobox. De plus, le stade « épiaison » correspond à un stade avancé du cycle de développement du blé. Ainsi, des situations de stress abiotiques ont pu apparaître dans le phytotron. En effet, nous avons dû apporter une solution nutritive aux plantes un mois avant la collecte des échantillons, car la teneur en chlorophylle des feuilles était considérablement réduite. De plus, en conditions contrôlées, l'irrigation homogène des rhizoboxes était difficile à mettre en œuvre car une croûte de battance en surface et la compaction du substrat dans le rhizobox ont réduit l'infiltration de l'eau. Ainsi, des différences d'humidité du substrat ont pu apparaître au sein des rhizobox et influencer le fonctionnement du système d'étude. C'est pourquoi, en conditions contrôlées, la croissance des plantes dure généralement moins longtemps qu'en conditions de terrain (Poorter et al. 2016). De plus, sur la parcelle BIODIVERSYSTEM d'où sont issues les observations du jeu de données 4, une importante quantité d'adventices est apparue et a pu modifier les processus d'interaction plante-plante (Zhu et al. 2022). Bien que les variables mesurées soient identiques, les méthodes de mesure des variables sont également contraintes par les conditions expérimentales. En conditions de terrain, il est très difficile de collecter l'ensemble du système racinaire, contrairement aux rhizoboxes. En parcelle agricole, nous

n'avons pas réussi à collecter les racines en profondeur et à conserver les ramifications. Les mesures de Biomasse Racinaire et de SRL sont donc différentes entre les deux expérimentations. Ainsi, la variable SRL n'est pas informative dans le **jeu de données 4** car elle n'est pas corrélée aux autres variables du système d'étude. Les prélèvements de sol rhizosphérique ont également été influencés par les conditions expérimentales. Même en prenant les meilleures précautions, les méthodes de prélèvement des échantillons sont plus complexes en parcelle agricole et des biais « expérimentateur » ont pu apparaître lors du prélèvement des échantillons car le prélèvement de sol rhizosphérique sur le terrain a également pu être dilué par du sol non influencé par les racines. A l'inverse, dans les rhizoboxes, la fine lame de substrat colonisée par les racines permet d'assurer la fiabilité de la collecte de sol rhizosphérique. En parcelle agricole, nous avons collecté du sol rhizosphérique à partir d'un bloc de sol prélevé au sein du couvert et contenant plusieurs plantes. Ainsi, le sol rhizosphérique correspond à un prélèvement de sol composite à partir de la rhizosphère de plusieurs plantes. De plus, les mesures réalisées sur les plantes correspondent à une moyenne des mesures effectuées sur trois plantes sélectionnées aléatoirement dans le bloc de sol. Ces résultats rappellent que les méthodes de collecte et d'analyse des échantillons doivent être adaptées aux différentes conditions d'expérimentation afin de mesurer des variables comparables ([Delory et al. 2018](#), [Freschet et al. 2021](#)). En effet, certaines variables semblent plus pertinentes que d'autres à mesurer en conditions de terrain, il est donc nécessaire d'avoir une réflexion *a priori* sur les moyens à disposition et les contraintes expérimentales inhérentes aux conditions de terrain pour choisir les variables étudiées. Enfin, l'une des principales contraintes concerne les mesures de nombres d'épis en conditions contrôlées. En effet, les contraintes expérimentales en conditions contrôlées nous ont obligé à collecter les échantillons à une date précise pour laquelle certains individus de blé n'avaient pas encore atteint le stade épiaison. Ainsi, une partie des observations en conditions contrôlées ne présente pas d'épis (Figure 7.14). A l'inverse, la moyenne du nombre d'épis par plant est supérieure à 0 pour toutes les observations en parcelle agricole. Ces contraintes expérimentales peuvent expliquer la différence de relation entre le nombre de tiges et le nombre d'épis par plant (Figure 7.14).

5. Conclusion

Pour les modèles présentant de nombreux paramètres à estimer comme les modèles issus du cadre de travail développé pour l'approche exploratoire de la modélisation par équations structurales à variables latentes, les structures causales sont rejetées par les données collectées en parcelle agricole. Ce résultat peut s'expliquer par des facteurs biologiques ou des contraintes expérimentales qui doivent être pris en compte *a priori* dans le design expérimental afin de déterminer les variables les plus pertinentes à étudier et le nombre d'observations nécessaires. Cependant, certaines structures causales peu complexes restent valables d'une expérimentation à l'autre car certains modèles ne sont

pas rejetés par les données des deux expérimentations. Malgré les contraintes d'expérimentation au champ, l'approche terrain est nécessaire pour promouvoir la prise en compte de la rhizosphère dans la production de connaissances actionnables. Pour cela, l'analyse multi-échelle des structures causales est prometteuse pour lever les contraintes liées à l'expérimentation en parcelle agricole.

6. Références

- Catford, J. A., J. R. U. Wilson, P. Pyšek, P. E. Hulme, and R. P. Duncan. 2022. Addressing context dependence in ecology. *Trends in Ecology & Evolution* **37**:158-170. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2021.09.007>
- Delory, B. M., E. W. A. Weidlich, R. van Duijnen, L. Pagès, and V. M. Temperton. 2018. Measuring Plant Root Traits Under Controlled and Field Conditions: Step-by-Step Procedures. *Methods Mol Biol* **1761**:3-22. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7747-5_1
- Fierer, N., and R. B. Jackson. 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**:626-631. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507535103>
- Freschet, G. T., L. Pages, C. M. Iversen, L. H. Comas, B. Rewald, C. Roumet, J. Klimesova, M. Zadworny, H. Poorter, J. A. Postma, T. S. Adams, A. Bagniewska-Zadworna, A. G. Bengough, E. B. Blancaflor, I. Brunner, J. H. C. Cornelissen, E. Garnier, A. Gessler, S. E. Hobbie, I. C. Meier, L. Mommer, C. Picon-Cochard, L. Rose, P. Ryser, M. Scherer-Lorenzen, N. A. Soudzilovskaia, A. Stokes, T. Sun, O. J. Valverde-Barrantes, M. Weemstra, A. Weigelt, N. Wurzbarger, L. M. York, S. A. Batterman, M. G. de Moraes, S. Janecek, H. Lambers, V. Salmon, N. Tharayil, and M. L. McCormack. 2021. A starting guide to root ecology: strengthening ecological concepts and standardising root classification, sampling, processing and trait measurements. *New Phytologist* **232**:973-1122. <https://doi.org/10.1111/nph.17572>
- Grace, J. B. 2006. *Structural Equation Modeling and Natural Systems*. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511617799>
- Herzog, W., and A. Boomsma. 2009. Small-Sample Robust Estimators of Noncentrality-Based and Incremental Model Fit. *Structural Equation Modeling: A Multidisciplinary Journal* **16**:1-27. <https://doi.org/10.1080/10705510802561279>
- Hoyle, R. H., and N. C. Gottfredson. 2015. Sample Size Considerations in Prevention Research Applications of Multilevel Modeling and Structural Equation Modeling. *Prevention Science* **16**:987-996. <https://doi.org/10.1007/s11212-014-0489-8>
- Iversen, C. M., M. L. McCormack, A. S. Powell, C. B. Blackwood, G. T. Freschet, J. Kattge, C. Roumet, D. B. Stover, N. A. Soudzilovskaia, O. J. Valverde-Barrantes, P. M. van Bodegom, and C. Violle. 2017. A global Fine-Root Ecology Database to address below-ground challenges in plant ecology. *New Phytologist* **215**:15-26. <https://doi.org/10.1111/nph.14486>
- Jackson, D. L. 2007. The Effect of the Number of Observations per Parameter in Misspecified Confirmatory Factor Analytic Models. *Structural Equation Modeling: A Multidisciplinary Journal* **14**:48-76. <https://doi.org/10.1080/10705510709336736>
- Jackson, D. L., J. Voth, and M. P. Frey. 2013. A Note on Sample Size and Solution Propriety for Confirmatory Factor Analytic Models. *Structural Equation Modeling: A Multidisciplinary Journal* **20**:86-97. <https://doi.org/10.1080/10705511.2013.742388>
- Kline, R. B. 2015. *Principles and practice of structural equation modeling*. Guilford publications.
- MacCallum, R. C., and J. T. Austin. 2000. Applications of Structural Equation Modeling in Psychological Research. *Annual Reviews of Psychology* **51**:201-226. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.51.1.201>
- Marsh, H. W., K.-T. Hau, J. R. Balla, and D. Grayson. 1998. Is More Ever Too Much? The Number of Indicators per Factor in Confirmatory Factor Analysis. *Multivariate Behavioral Research* **33**:181-220. https://doi.org/10.1207/s15327906mbr3302_1

- Milcu, A., R. Puga-Freitas, A. M. Ellison, M. Blouin, S. Scheu, G. T. Freschet, L. Rose, S. Barot, S. Cesarz, N. Eisenhauer, T. Girin, D. Assandri, M. Bonkowski, N. Buchmann, O. Butenschoen, S. Devidal, G. Gleixner, A. Gessler, A. Gigon, A. Greiner, C. Grignani, A. Hansart, Z. Kayler, M. Lange, J.-C. Lata, J.-F. Le Galliard, M. Lukac, N. Mannerheim, M. E. H. Müller, A. Pando, P. Rotter, M. Scherer-Lorenzen, R. Seyhun, K. Urban-Mead, A. Weigelt, L. Zavattaro, and J. Roy. 2018. Genotypic variability enhances the reproducibility of an ecological study. *Nature Ecology & Evolution* **2**:279-287. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0434-x>
- Poorter, H., F. Fiorani, R. Pieruschka, T. Wojciechowski, W. H. van der Putten, M. Kleyer, U. Schurr, and J. Postma. 2016. Pampered inside, pestered outside? Differences and similarities between plants growing in controlled conditions and in the field. *New Phytologist* **212**:838-855. <https://doi.org/10.1111/nph.14243>
- Rousk, J., E. Bååth, P. C. Brookes, C. L. Lauber, C. Lozupone, J. G. Caporaso, R. Knight, and N. Fierer. 2010. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *The ISME Journal* **4**:1340-1351. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.58>
- Shi, D., T. Lee, and R. A. Terry. 2018. Revisiting the Model Size Effect in Structural Equation Modeling. *Structural Equation Modeling: A Multidisciplinary Journal* **25**:21-40. <https://doi.org/10.1080/10705511.2017.1369088>
- Wolf, E. J., K. M. Harrington, S. L. Clark, and M. W. Miller. 2013. Sample Size Requirements for Structural Equation Models: An Evaluation of Power, Bias, and Solution Propriety. *Educational and Psychological Measurement* **73**:913-934. <https://doi.org/10.1177/0013164413495237>
- Zhu, Y.-H., J. Weiner, Y. Jin, M.-X. Yu, and F.-M. Li. 2022. Biomass Allocation Responses to Root Interactions in Wheat Cultivars Support Predictions of Crop Evolutionary Ecology Theory. *Frontiers in Plant Science* **13**. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.858636>

Chapitre 8

Discussion générale

1. Résultats principaux de la thèse

En dépit d'une attention grandissante, le rôle de l'effet rhizosphère comme levier de la transition agroécologique est relativement méconnu à l'échelle de la parcelle agricole (voir Etat de l'art Partie 1.). Dans ce contexte, mon travail de thèse consistait à faire la démonstration de l'existence d'un effet rhizosphérique et de le relier aux performances des plantes, et plus particulièrement du blé. Je me suis intéressé au contexte de polyculture-élevage où les cultures sont fertilisées grâce à des engrais minéraux et à la matière organique d'origine animale. D'après l'état de l'art, la détermination de l'effet rhizosphère dans un objectif décisionnel et non pas mécanistique de compréhension des interactions sol-plante n'est pas développée ([Vetterlein et al. 2022](#)). Ainsi, j'ai développé une démarche expérimentale inspirée de celle d'évaluation de la santé des sols ([Thoumazeau et al. 2019](#)) pour permettre une caractérisation de l'effet rhizosphère. Deux méthodes ont été développées. Dans le chapitre 4, l'effet rhizosphère a été calculé pour les activités d'enzymes (phosphatases acides et alcalines, arylamidase et β -glucosidase), les flux de nitrates et de phosphates dans le sol et la diversité des communautés microbiennes du sol. Dans le chapitre 5, l'effet rhizosphère a été calculé uniquement à l'aide des activités de la phosphatase acide, de l'arylamidase et de la β -glucosidase. De plus, la construction d'une variable agrégée associant l'ensemble des variables mesurées dans les sols permet d'évaluer l'effet des pratiques agricoles sur un effet rhizosphère global, traduisant l'influence des systèmes racinaires sur un ensemble de processus. Néanmoins, certaines variables semblent moins pertinentes pour estimer l'effet rhizosphère comme les flux de nutriments et notamment des nitrates qui sont modifiés par la fertilisation et n'apportent pas d'informations suffisamment pertinentes pour renseigner l'effet rhizosphère. La diversité des communautés microbiennes a également été peu sensible pour décrire un effet rhizosphère sur mes parcelles d'étude au stade floraison, probablement à cause d'un prélèvement de sol rhizosphérique qui n'était pas assez localisé à proximité des racines. Par la mise au point de ces indicateurs d'estimation de l'effet rhizosphère, j'ai caractérisé (i) l'effet rhizosphère sur des parcelles agricoles au cours du cycle de développement des plantes (chapitre 4), et (ii) évalué l'effet des pratiques agricoles de diversification des cultures et de travail du sol sur l'intensité de cet effet rhizosphère (chapitre 5 ; Figure 8.1) à un stade où l'effet rhizosphère est pertinent (« épiaison »). **L'effet rhizosphère a été mis en évidence sur l'ensemble des parcelles agricoles d'exploitations intensives en polyculture-élevage validant les hypothèses formulées.**

J'ai pu ainsi mettre en évidence l'intérêt de la diversification des couverts végétaux tant dans la rotation que dans la gestion de l'interculture qui, combiné à la réduction du travail du sol, permet d'exacerber l'effet rhizosphère induit par des variétés élites, modernes de blé, y compris en conditions de forte disponibilité des intrants. Le rôle de la fertilisation, autre pratique agricole semble également déterminant (chapitre 5). Si l'effet de ces pratiques était connu comme agissant sur la santé des sols,

leurs effets sur l'intensité de la rhizosphère n'étaient pas quantifiés même si les travaux portant sur chacune des pratiques au travers du concept d'hobionte ou de microbiome du sol pouvaient les laisser à penser ([Vandenkoornhuysse et al. 2015](#), [de la Fuente Cantó et al. 2020](#)). Mon travail a donc permis une avancée significative dans la compréhension du rôle des pratiques agroécologiques (augmentation de la biodiversité planifiée et réduction du travail du sol) sur l'effet rhizosphère en contexte de polyculture-élevage du Grand Ouest.

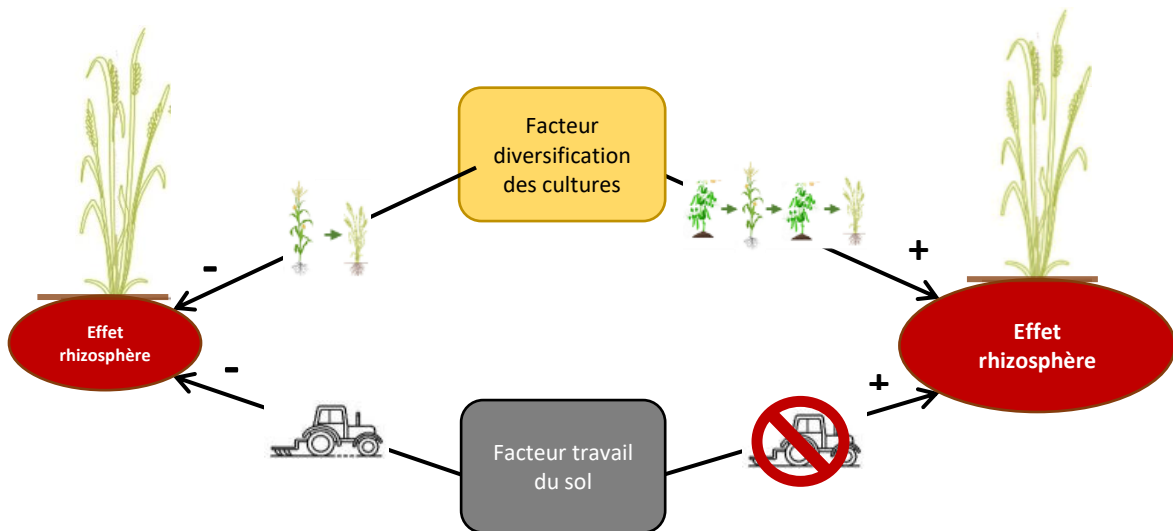


Figure 8.1 : Comparaison de l'intensité de l'effet rhizosphère en fonction des pratiques de diversification des cultures et du travail du sol obtenue grâce aux études menées dans les chapitres 4 et 5.

Dans une démarche d'identification de connaissances actionnables fondée sur l'effet rhizosphère pour le développement de systèmes de cultures agroécologiques (voir Etat de l'art Partie 5.), j'ai développé une nouvelle méthode de modélisation, exploratoire, basée sur les modèles d'équations structurales à variables latentes (chapitres 6 et 7). Cette approche a été réalisée grâce à des données collectées au cours de deux expérimentations, l'une en conditions contrôlées où des plants de blé ont été cultivés individuellement dans des dispositifs rhizobox et l'autre en conditions de terrain, sur une parcelle agricole. La méthodologie exploratoire développée permet de construire différents modèles potentiels élicitant les connaissances expertes. L'avantage de l'utilisation de la modélisation par équations structurales est de pouvoir décomposer la structure causale d'un système d'étude par des liens causaux directs (ou hypothèses causales) entre variables latentes. L'originalité de l'approche exploratoire a permis de construire un ensemble exhaustif de modèles potentiels pour représenter le système d'étude complexe des interactions sol-plante et de les tester en les confrontant aux données collectées en conditions contrôlées. J'ai pu identifier cinq structures causales associant les propriétés

de la rhizosphère aux traits racinaires et aériens des plantes (chapitre 6). Ces structures causales permettent d'identifier des hypothèses causales associant deux variables latentes entre elles qui ne sont pas rejetées par les données et sont représentées par des flèches rouges dans la Figure 8.1.

Pour le sens ENZYMES \rightarrow RACINES, correspondant à la structure causale de quatre des cinq modèles identifiés dans le chapitre 6, la variable latente ENZYMES est négativement reliée à la variable latente RACINES (Figure 8.2a), donc une augmentation de l'activité enzymatique dans la rhizosphère réduit les attributs des traits racinaires. La variable latente RACINES est positivement corrélée à la variable latente FEUILLES, donc la diminution de la biomasse racinaire s'accompagne d'une diminution des attributs de traits foliaires (Biomasse Foliaire et Surface Foliaire). De plus, pour la structure causale du sens ENZYMES \leftarrow RACINES, un effet positif des attributs racinaires sur la variable latente TIGES est observé (Figure 8.2b). Enfin, la diminution des attributs des traits foliaires s'accompagne par une augmentation des attributs des traits mesurés sur les épis car la variable latente FEUILLES est négativement associée à la variable latente EPIS. La relation causale indirecte entre les variables latentes ENZYMES et EPIS est donc positive avec les données collectées en conditions contrôlées (**jeu de données 3**). Cette association passe par la variable latente FEUILLES tandis que la relation impliquant la variable latente TIGES n'est pas significative. Par conséquent, les traits racinaires de biomasse et de longueur spécifique permettent de relier les propriétés de la rhizosphère aux traits aériens du blé, et constituent donc des proxys potentiels des propriétés de la rhizosphère et du fonctionnement des plantes. En effet, pour le sens ENZYMES \rightarrow RACINES, la variable latente RACINES est influencée par les propriétés de la rhizosphère et peut correspondre à la réponse des caractéristiques des racines aux modifications des propriétés de la rhizosphère. A l'inverse, pour la structure causale associée au sens ENZYMES \leftarrow RACINES (Figure 8.2b), l'activité enzymatique de la rhizosphère est causée par les traits racinaires ce qui peut traduire l'influence des traits racinaires sur le fonctionnement de la rhizosphère. **Dans ces conditions d'expérimentation contrôlées, l'hypothèse associée à l'approche de modélisation (hypothèse 3) est donc vérifiée (Figure 8.2)**

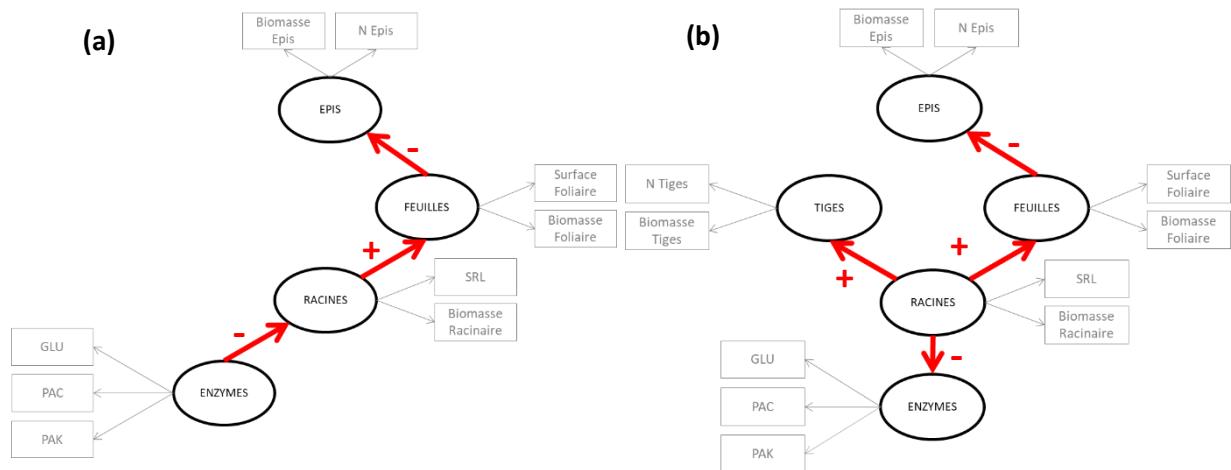


Figure 8.2 : Modèles d'équations structurales représentatifs du modèle structural identifié pour (a) le sens ENZYMES → RACINES et (b) le sens ENZYMES ← RACINES grâce au cadre de travail de l'approche exploratoire de la modélisation par équations structurales à variables latentes.

2. Limites

La caractérisation de l'effet rhizosphère est limitée par le nombre de parcelles d'étude et le nombre de facteurs étudiés. En effet, seules trois parcelles ont été comparées dans le chapitre 4 et six dans le chapitre 5. Dans ces expérimentations, de nombreux facteurs de confusion n'ont pas pu être pris en compte à cause du faible nombre de parcelles par modalité étudiée. Par exemple, le niveau de fertilisation ou d'utilisation de produits phytosanitaires et l'humidité pondérale des sols peuvent être à l'origine d'une part de la variabilité des activités enzymatiques observée sur les parcelles ([Steinweg et al. 2012](#), [Riah et al. 2014](#), [Jiang et al. 2021](#)), et donc de l'effet rhizosphère. De plus, l'indicateur de diversification des cultures adapté de [Tiemann et al. \(2015\)](#) ne tient pas compte de la diversité fonctionnelle qui permettrait de mieux interpréter l'effet de la diversification ([Cadotte et al. 2011](#), [Maltais-Landry 2015](#), [Finney and Kaye 2017](#), [Wittwer et al. 2017](#)). Enfin, l'identification de certains taxons microbiens peut permettre d'associer la performance des plantes aux propriétés de la rhizosphère ([Bais et al. 2006](#), [de Vries and Wallenstein 2017](#), [Hu et al. 2018](#)), il aurait donc été pertinent de compléter la première approche basée sur les indices de diversité microbienne des sols (chapitre 4).

L'inconvénient majeur de la modélisation par équations structurales est le nombre d'observations nécessaires pour identifier des hypothèses causales ([Deng et al. 2018](#)), bien que des solutions se développent pour lever cette contrainte ([Rosseel 2020](#)). Cependant, la collecte des données requiert d'importants moyens, ce qui pose la question de la pertinence de l'utilisation de la modélisation par

équations structurales à variables latentes pour identifier les variables les plus informatives pour caractériser l'effet rhizosphère. Dans mon travail, le nombre de variables étudiées pour caractériser le système sol-plante a été particulièrement contraint. En particulier, je n'ai utilisé qu'un faible nombre de traits racinaires. Pourtant, d'autres traits auraient pu être étudiés comme la vitesse d'élongation racinaire ou le nombre de ramifications pour pouvoir comparer les individus entre eux ([Lavorel et al. 2007](#), [Freschet et al. 2021](#)). Afin de lever la contrainte expérimentale de la taille d'échantillon, j'ai dû mettre en place plusieurs étapes de simplification des modèles en regroupant ou en supprimant des variables. Par exemple, j'ai fait le choix de retirer plusieurs variables des modèles (humidité du substrat, activité de l'arylamidase et teneur en phosphore estimée par la méthode Olsen) pour réduire la complexité et permettre l'estimation des paramètres grâce à la méthode d'estimation du maximum de vraisemblance. Par ailleurs, une attention particulière a été faite sur l'identification des structures causales permettant de relier le compartiment de la rhizosphère aux caractéristiques des racines. A l'inverse, les hypothèses causales modélisées entre les différentes composantes aériennes du blé n'ont pas été modifiées. D'autres choix de variables latentes comme la biomasse des différentes parties aériennes ou la surface foliaire auraient été possibles ([Violle et al. 2007](#)). Mes choix et mes sites d'études (type de sol, espèce étudiée) réduisent la portée de mes résultats de modélisation sans toutefois les invalider. En effet, les structures et hypothèses causales sont rejetées par les données collectées en conditions de terrain, probablement à cause du nombre d'observations trop faible pour estimer les paramètres des modèles. Néanmoins, l'analyse multi-échelle a permis de mettre en évidence certaines structures causales qui n'étaient pas rejetées avec les données des deux expérimentations, en conditions contrôlées et en conditions réelles. Cependant, la relation causale associant les activités enzymatiques et les systèmes racinaires n'est pas conservée en conditions de terrain ne permettant plus de relier le fonctionnement de la rhizosphère aux parties aériennes du blé. Bien que l'interprétation des résultats de la modélisation par équations structurales en conditions de terrain semble limitée dans cette thèse, cette analyse multi-échelle appliquée à la modélisation par équations structurales a le potentiel d'étudier plus en avant les interactions sol-plante dans une démarche de production de connaissances actionnables. A l'inverse, les méthodes de modélisation statistiques telles que la régression linéaire multiple ou l'analyse en composantes principales ne permettent pas d'identifier des hypothèses causales dans une démarche de production de connaissances actionnables.

3. Perspectives et conclusions de la thèse

La modélisation par équations structurales permet d'identifier des schémas causaux qui ne sont pas rejetés par les données sur la base d'un test statistique, mais cela ne signifie pas que cette structure causale est pertinente pour représenter le fonctionnement global du système d'un point de vue

biologique ([Shiple 2016](#)). De même, les hypothèses causales significatives identifiées dans les modèles ne permettent pas de valider les hypothèses causales définies *a priori* par les données et d'affirmer la présence d'une relation de cause-à-effet dans les données. Afin de tester les relations causales au sein du système sol-plante, d'autres études expérimentales sont nécessaires. Les essais randomisés contrôlés correspondent à la méthode la plus fiable pour tester les hypothèses causales ([Hariton and Locascio 2018](#), [Larsen et al. 2019](#), [Leroy et al. 2022](#)). Certaines études valident les schémas causaux obtenus grâce aux connaissances théoriques sur le système d'étude ([Eisenhauer et al. 2015](#)). En outre, une dimension temporelle pourrait être ajoutée à mon approche de modélisation par équations structurales multi-groupe. Ainsi, le nombre d'observations par groupe aurait été réduit avec des conséquences sur la capacité d'estimation des paramètres des modèles, comme nous l'avons vu dans le chapitre 4. Une approche par simulations serait également à développer pour déterminer le nombre minimal d'observations nécessaires pour estimer les paramètres des modèles *a priori* ([Muthén and Muthén 2002](#), [Wolf et al. 2013](#)) afin de préserver les bénéfices de la modélisation par équations structurales lors de l'élaboration du design expérimental.

Les études plus fondamentales permettant de relier les propriétés de la rhizosphère et les traits racinaires aux performances aériennes des plantes en contexte agricole doivent également être poursuivies ([Geng et al. 2017](#), [Vetterlein et al. 2022](#), [Weemstra et al. 2022](#)). La difficulté des mesures de traits racinaires et leur variabilité suggèrent de considérer les traits aériens proxys du fonctionnement de la rhizosphère ([Madritch et al. 2020](#)). Par exemple, la teneur en manganèse dans les feuilles est associée à la sécrétion d'anions par les racines dans une stratégie d'exploitation des ressources du sol en conditions de faible disponibilité du phosphore ([Lambers et al. 2015](#)). De même, l'activité d'enzymes foliaires peut être associée à une modification des processus biologiques de nitrification dans les sols ([Karwat et al. 2019](#)). Cette étape me paraît nécessaire pour la production de connaissances actionnables permettant de concevoir des systèmes de culture agroécologiques et doit être associée à des approches participatives en associant les agriculteurs notamment pour identifier les variables d'intérêt et ainsi faciliter le transfert des connaissances en agroécologie ([Geertsema et al. 2016](#), [Meynard et al. 2017](#), [Toillier et al. 2018](#)).

En attendant ces développements, notre méthodologie de quantification de l'effet rhizosphère peut être mobilisée par les services agronomiques des coopératives impliquées dans mon projet de thèse. Ma thèse CIFRE se situe à un niveau de maturité technologique (Technology Readiness Level – TRL) entre 4 et 6 et permet de faire le lien entre l'élaboration d'une preuve de concept et l'opérationnalisation d'un produit ou d'un service (Figure 8.3).

Discussion générale

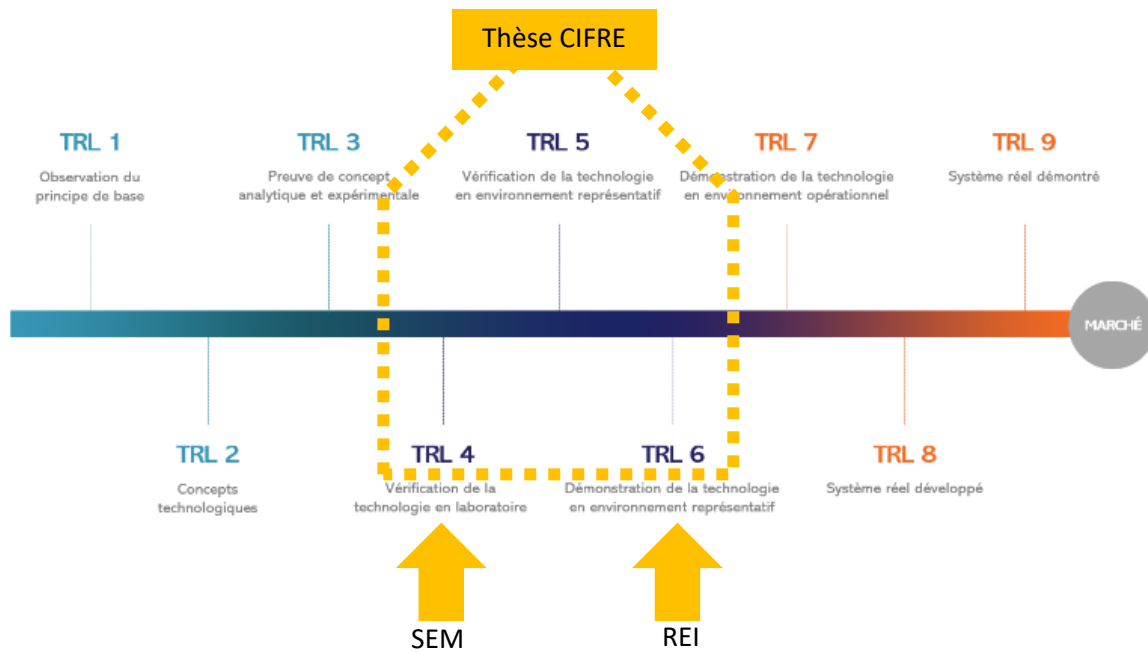


Figure 8.3 : Représentation schématique de l'échelle TRL et positionnement de la thèse, de l'approche de modélisation (SEM) et de l'approche expérimentale permettant de caractériser l'effet rhizosphère (REI).

En effet, l'indicateur de l'effet rhizosphère a été démontré dans un environnement représentatif. De plus, lors d'un groupe de travail, les résultats obtenus sur les parcelles étudiées ont été présentés au groupe d'agriculteurs partenaires du projet et l'indicateur mis au point pendant ma thèse a été confronté à leur point de vue (Figure 8.4). Lors de ce groupe de travail réalisé avec les agriculteurs partenaires du projet de thèse, deux objectifs de l'indicateur ont été identifiés :

- Réaliser un diagnostic de la parcelle pour évaluer la qualité du fonctionnement de la rhizosphère par rapport à une valeur de référence,
- Évaluer l'influence des pratiques agricoles sur le fonctionnement de la rhizosphère afin de faire évoluer les pratiques pour améliorer les propriétés de la rhizosphère

Discussion générale



Figure 8.4 : Photographie de l'atelier de travail réalisé avec les agriculteurs partenaires du projet. Crédits photo : E. Le Cadre, Institut Agro Rennes Angers.

Cet atelier nous a également permis de juger des difficultés d'appropriation ou des risques d'interprétation erronée des résultats, et de déterminer les conditions d'application pratique de cet indicateur pour le secteur agricole. Pour cela, [Bockstaller et al. \(2008\)](#) suggèrent différentes étapes (Figure 8.5) à réaliser pour la conception d'un indicateur fiable, sensible et simple d'utilisation.

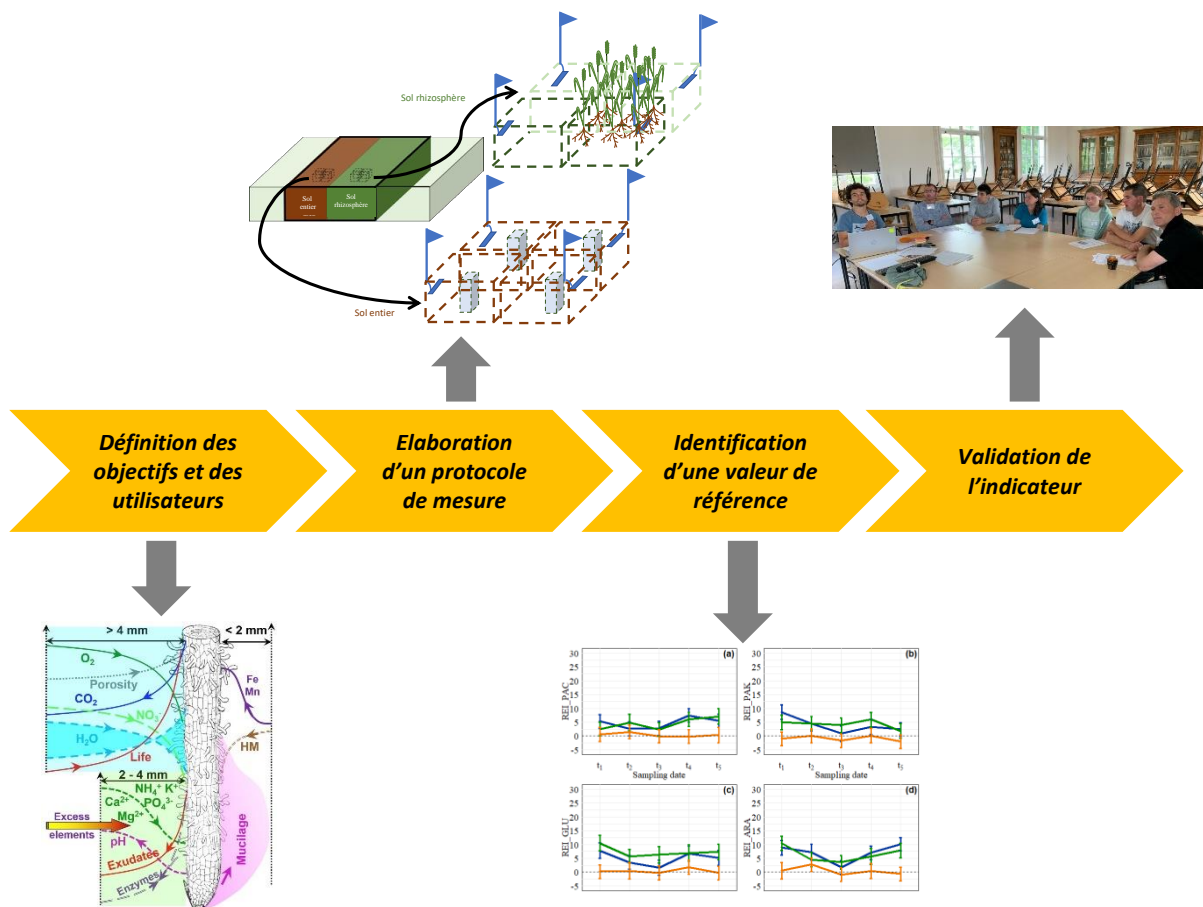


Figure 8.5 : Représentation schématique des différentes étapes de conception de l'indicateur de l'effet rhizosphère.

La première étape consiste à définir les objectifs et identifier les utilisateurs finaux de l'indicateur. L'objectif de cet indicateur est d'évaluer l'effet rhizosphère sur des parcelles agricoles qui correspondent à la différence de fonctionnement entre la rhizosphère et le sol entier. Il est à destination des agriculteurs et peut être proposé lors d'une analyse de sol des parcelles agricoles.

La deuxième étape consiste à élaborer un protocole permettant de calculer un indicateur adapté aux besoins des utilisateurs finaux. L'indicateur traduit la capacité des plantes à modifier le fonctionnement du sol autour des racines et promouvoir les processus biologiques qui peuvent avoir un effet bénéfique sur les performances des plantes. Deux méthodes de calcul ont été développées au cours de la thèse. L'indicateur développé dans le chapitre 5 semble plus adapté pour évaluer l'influence des pratiques agricoles car il permet de décomposer l'effet rhizosphère en fonction de différents facteurs de variabilité.

$$REI_{jk} = \alpha_{RS}\beta_j\gamma_k - \alpha_{BS}\beta_j\gamma_k$$

Equation 8.1 : Indicateur de l'effet rhizosphère utilisés dans le chapitre 5 pour caractériser la combinaison de deux modalités j et k des facteurs β et γ , respectivement. α , $\alpha\beta$ et $\alpha\beta\gamma$ représentent les moyennes estimées par le modèle linéaire multiple.

Cet indicateur a été mesuré pour plusieurs paramètres du sol mais peut être étendu à des mesures de pH ou de biomasse microbienne afin de caractériser plusieurs fonctions écologiques de la rhizosphère. La méthode de prélèvement de sol rhizosphérique et entier peut être améliorée notamment grâce à l'utilisation de sacs imperméables aux racines enfouis au sein du couvert végétal ([Freschet et al. 2021](#)).

La troisième étape consiste à identifier une valeur de référence qui permet de définir à partir de quel niveau d'intensité l'effet rhizosphère est satisfaisant. Cette valeur peut être absolue et fixée à un niveau permettant d'améliorer la performance des plantes grâce à la promotion des propriétés de la rhizosphère. Je préconise de définir une valeur de référence à partir de l'étude de nombreuses parcelles représentatives d'un territoire donné. Cela permettrait également d'évaluer la sensibilité de l'indicateur en fonction de facteurs de variabilité qui ont une influence sur les paramètres étudiés comme le milieu ou l'espèce afin d'obtenir un référentiel de l'effet rhizosphère.

Enfin, la dernière étape est la validation de l'indicateur. Nous avons mis en place des enquêtes et des ateliers pour définir les possibilités d'utilisation de l'indicateur et discuter des limites et avantages de notre démarche.

En conclusion, cette thèse a permis de mettre en évidence l'existence d'un effet rhizosphère sur des parcelles agricoles cultivées en contexte de polyculture-élevage. Ces exploitations sont intensives car elles reposent sur l'utilisation importante de fertilisants minéraux et organiques ainsi que de produits phytosanitaires et cultivent des variétés élites de blé. Ainsi, même pour ces systèmes, la variété de blé tendre Absalon exerce une influence sur le fonctionnement de la rhizosphère, bien que cette variété ait été sélectionnée pour des traits spécifiques associés au rendement et à la résistance vis-à-vis de pathogènes. Mon travail de thèse offre donc des perspectives dans différentes disciplines scientifiques (écologie, agronomie, statistiques) mais également de transfert vers les coopératives pour œuvrer à la transition agroécologique avec la recherche publique.

4. Références

- Bais, H. P., T. L. Weir, L. G. Perry, S. Gilroy, and J. M. Vivanco. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology* **57**:233-266. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159>
- Bockstaller, C., L. Guichard, D. Makowski, A. Aveline, P. Girardin, and S. Plantureux. 2008. Agri-environmental indicators to assess cropping and farming systems. A review. *Agronomy for Sustainable Development* **28**:139-149. <https://doi.org/10.1051/agro:2007052>
- Cadotte, M. W., K. Carscadden, and N. Mirotchnick. 2011. Beyond species: functional diversity and the maintenance of ecological processes and services. *Journal of Applied Ecology* **48**:1079-1087. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2011.02048.x>
- de la Fuente Cantó, C., M. Simonin, E. King, L. Moulin, M. J. Bennett, G. Castrillo, and L. Laplaze. 2020. An extended root phenotype: the rhizosphere, its formation and impacts on plant fitness. *Plant Journal* **103**:951-964. <https://doi.org/10.1111/tpj.14781>
- de Vries, F. T., and M. D. Wallenstein. 2017. Below-ground connections underlying above-ground food production: a framework for optimising ecological connections in the rhizosphere. *Journal of Ecology* **105**:913-920. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12783>
- Deng, L., M. Yang, and K. M. Marcoulides. 2018. Structural Equation Modeling With Many Variables: A Systematic Review of Issues and Developments. *Frontiers in Psychology* **9**. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2018.00580>
- Eisenhauer, N., M. A. Bowker, J. B. Grace, and J. R. Powell. 2015. From patterns to causal understanding: Structural equation modeling (SEM) in soil ecology. *Pedobiologia* **58**:65-72. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2015.03.002>
- Finney, D. M., and J. P. Kaye. 2017. Functional diversity in cover crop polycultures increases multifunctionality of an agricultural system. *Journal of Applied Ecology* **54**:509-517. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12765>
- Freschet, G. T., L. Pages, C. M. Iversen, L. H. Comas, B. Rewald, C. Roumet, J. Klimesova, M. Zadworny, H. Poorter, J. A. Postma, T. S. Adams, A. Bagniewska-Zadworna, A. G. Bengough, E. B. Blancaflor, I. Brunner, J. H. C. Cornelissen, E. Garnier, A. Gessler, S. E. Hobbie, I. C. Meier, L. Mommer, C. Picon-Cochard, L. Rose, P. Ryser, M. Scherer-Lorenzen, N. A. Soudzilovskaia, A. Stokes, T. Sun, O. J. Valverde-Barrantes, M. Weemstra, A. Weigelt, N. Wurzbürger, L. M. York, S. A. Batterman, M. G. de Moraes, S. Janecek, H. Lambers, V. Salmon, N. Tharayil, and M. L. McCormack. 2021. A starting guide to root ecology: strengthening ecological concepts and standardising root classification, sampling, processing and trait measurements. *New Phytologist* **232**:973-1122. <https://doi.org/10.1111/nph.17572>
- Geertsema, W., W. A. Rossing, D. A. Landis, F. J. Bianchi, P. C. van Rijn, J. H. Schaminée, T. Tschardtke, and W. van der Werf. 2016. Actionable knowledge for ecological intensification of agriculture. *Frontiers in Ecology and Environment* **14**:209-216. <https://doi.org/10.1002/fee.1258>
- Geng, Y., W. Ma, L. Wang, F. Baumann, P. Kühn, T. Scholten, and J.-S. He. 2017. Linking above- and belowground traits to soil and climate variables: an integrated database on China's grassland species. *Ecology* **98**:1471-1471. <https://doi.org/10.1002/ecy.1780>
- Hariton, E., and J. J. Locascio. 2018. Randomised controlled trials – the gold standard for effectiveness research. *BJOG : International Journal of Obstetrics & Gynaecology* **125**:1716-1716. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.15199>
- Hu, L., C. A. M. Robert, S. Cadot, X. Zhang, M. Ye, B. Li, D. Manzo, N. Chervet, T. Steinger, M. G. A. van der Heijden, K. Schlaeppi, and M. Erb. 2018. Root exudate metabolites drive plant-soil feedbacks on growth and defense by shaping the rhizosphere microbiota. *Nature Communications* **9**:2738. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05122-7>
- Jiang, Z., Y. Liu, J. Yang, Z. Zhou, and A. Gunina. 2021. Effects of nitrogen fertilization on the rhizosphere priming. *Plant and Soil* **462**:489-503. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-04872-6>

- Karwat, H., M.-A. Sparke, F. Rasche, J. Arango, J. Nuñez, I. Rao, D. Moreta, and G. Cadisch. 2019. Nitrate reductase activity in leaves as a plant physiological indicator of in vivo biological nitrification inhibition by *Brachiaria humidicola*. *Plant Physiology and Biochemistry* **137**:113-120. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.02.002>
- Lambers, H., P. E. Hayes, E. Laliberté, R. S. Oliveira, and B. L. Turner. 2015. Leaf manganese accumulation and phosphorus-acquisition efficiency. *Trends in Plant Science* **20**:83-90. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.10.007>
- Larsen, A. E., K. Meng, and B. E. Kendall. 2019. Causal analysis in control–impact ecological studies with observational data. **10**:924-934. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13190>
- Lavorel, S., S. Díaz, J. H. C. Cornelissen, E. Garnier, S. P. Harrison, S. McIntyre, J. G. Pausas, N. Pérez-Harguindeguy, C. Roumet, and C. Urcelay. 2007. Plant functional types: are we getting any closer to the Holy Grail? Pages 149-164 *Terrestrial ecosystems in a changing world*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-540-32730-1_13
- Leroy, J. L., E. A. Frongillo, B. E. Kase, S. Alonso, M. Chen, I. Dohoo, L. Huybregts, S. Kadiyala, and N. M. Saville. 2022. Strengthening causal inference from randomised controlled trials of complex interventions. **7**:e008597. <https://gh.bmj.com/content/bmjgh/7/6/e008597.full.pdf>
- Madritch, M., J. Cavender-Bares, S. E. Hobbie, and P. A. Townsend. 2020. Linking Foliar Traits to Belowground Processes. Pages 173-197 *in* J. Cavender-Bares, J. A. Gamon, and P. A. Townsend, editors. *Remote Sensing of Plant Biodiversity*. Springer International Publishing, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-33157-3_8
- Maltais-Landry, G. 2015. Legumes have a greater effect on rhizosphere properties (pH, organic acids and enzyme activity) but a smaller impact on soil P compared to other cover crops. *Plant and Soil* **394**:139-154. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2518-1>
- Meynard, J.-M., M.-H. Jeuffroy, M. Le Bail, A. Lefèvre, M.-B. Magrini, and C. Michon. 2017. Designing coupled innovations for the sustainability transition of agrifood systems. *Agricultural Systems* **157**:330-339. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2016.08.002>
- Muthén, L. K., and B. O. Muthén. 2002. How to Use a Monte Carlo Study to Decide on Sample Size and Determine Power. *Structural Equation Modeling: A Multidisciplinary Journal* **9**:599-620. https://doi.org/10.1207/S15328007SEM0904_8
- Riah, W., K. Laval, E. Laroche-Ajzenberg, I. Trinsoutrot-Gattin, C. Mougín, and X. Latour. 2014. Effects of pesticides on soil enzymes: a review. *Environ Chem Lett* **12**:257-273. <https://doi.org/10.1007/s10311-014-0458-2>
- Rosseel, Y. 2020. Small Sample Solutions for Structural Equation Modeling. *in* R. van de Schoot and M. Miočević, editors. *Small Sample Size Solutions*. Routledge. <https://doi.org/10.4324/9780429273872>
- Shipley, B. 2016. *Cause and correlation in biology: a user's guide to path analysis, structural equations and causal inference with R*. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139979573>
- Steinweg, J. M., J. S. Dukes, and M. D. Wallenstein. 2012. Modeling the effects of temperature and moisture on soil enzyme activity: Linking laboratory assays to continuous field data. *Soil Biology & Biochemistry* **55**:85-92. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.06.015>
- Thoumazeau, A., C. Bessou, M.-S. Renevier, J. Trap, R. Marichal, L. Mareschal, T. Decaëns, N. Bottinelli, B. Jaillard, T. Chevallier, N. Suvannang, K. Sajjaphan, P. Thaler, F. Gay, and A. Brauman. 2019. Biofunctool®: a new framework to assess the impact of land management on soil quality. Part A: concept and validation of the set of indicators. *Ecological Indicators* **97**:100-110. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.09.023>
- Tiemann, L. K., A. S. Grandy, E. E. Atkinson, E. Marin-Spiotta, and M. D. McDaniel. 2015. Crop rotational diversity enhances belowground communities and functions in an agroecosystem. *Ecology Letters* **18**:761-771. <https://doi.org/10.1111/ele.12453>
- Toillier, A., A. Devaux-Spatarakis, G. Faure, D. Barret, and C. Marquié. 2018. Comprendre la contribution de la recherche à l'innovation collective par l'exploration de mécanismes de

- renforcement de capacité. Cahiers Agricultures **27**:13 p.
<https://doi.org/10.1051/cagri/2017055>
- Vandenkoornhuysse, P., A. Quaiser, M. Duhamel, A. Le Van, and A. Dufresne. 2015. The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytologist* **206**:1196-1206.
<https://doi.org/10.1111/nph.13312>
- Vetterlein, D., A. Carminati, and A. Schnepf. 2022. Special issue: Rhizosphere spatiotemporal organisation: an integrated approach linking above and belowground. *Plant and Soil* **478**:1-4.
<https://doi.org/10.1007/s11104-022-05716-7>
- Violle, C., M. L. Navas, D. Vile, E. Kazakou, C. Fortunel, I. Hummel, and E. Garnier. 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos* **116**:882-892. <https://doi.org/10.1111/j.2007.0030-1299.15559.x>
- Weemstra, M., T. W. Kuyper, F. J. Sterck, and M. N. Umaña. 2022. Incorporating belowground traits: avenues towards a whole-tree perspective on performance. *Oikos*:e08827.
<https://doi.org/10.1111/oik.08827>
- Wittwer, R. A., B. Dorn, W. Jossi, and M. G. A. van der Heijden. 2017. Cover crops support ecological intensification of arable cropping systems. *Scientific Reports* **7**:41911.
<https://doi.org/10.1038/srep41911>
- Wolf, E. J., K. M. Harrington, S. L. Clark, and M. W. Miller. 2013. Sample Size Requirements for Structural Equation Models: An Evaluation of Power, Bias, and Solution Propriety. *Educational and Psychological Measurement* **73**:913-934. <https://doi.org/10.1177/0013164413495237>

Annexes

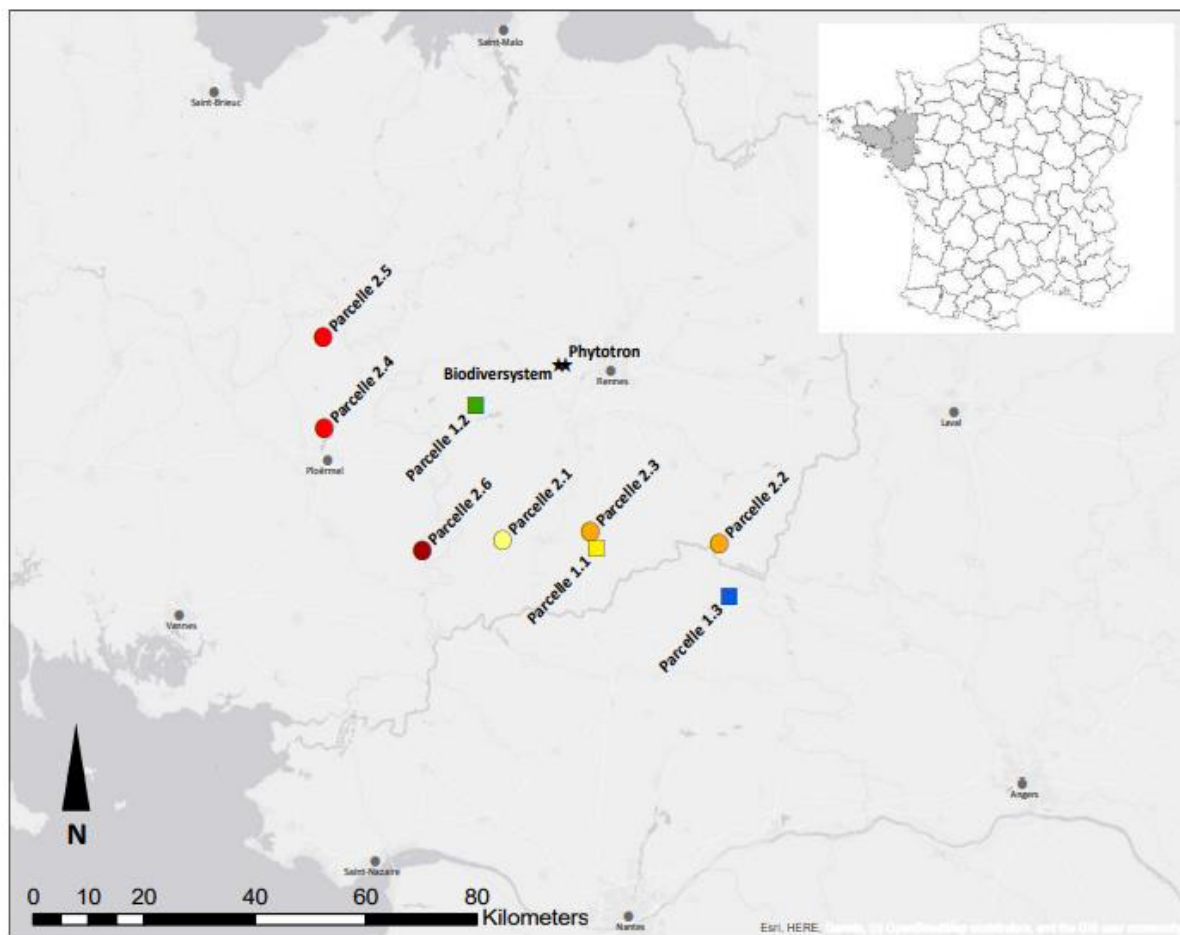
Annexe 1: Localisation et propriétés pédologiques des exploitations

Figure A1.1 : Localisation des parcelles d'expérimentations du chapitre 4 (*Jeu de données 1* ; Parcelles 1.1 - 1.2 - 1.3), du chapitre 5 (*Jeu de données 2* ; Parcelles 2.1 - 2.2 - 2.3 - 2.4 - 2.5 - 2.6) et des sites expérimentaux du chapitre 6 (*Jeu de données 3* ; phytotron) et du chapitre 7 (*Jeu de données 4* ; BIODIVERSYSTEM).

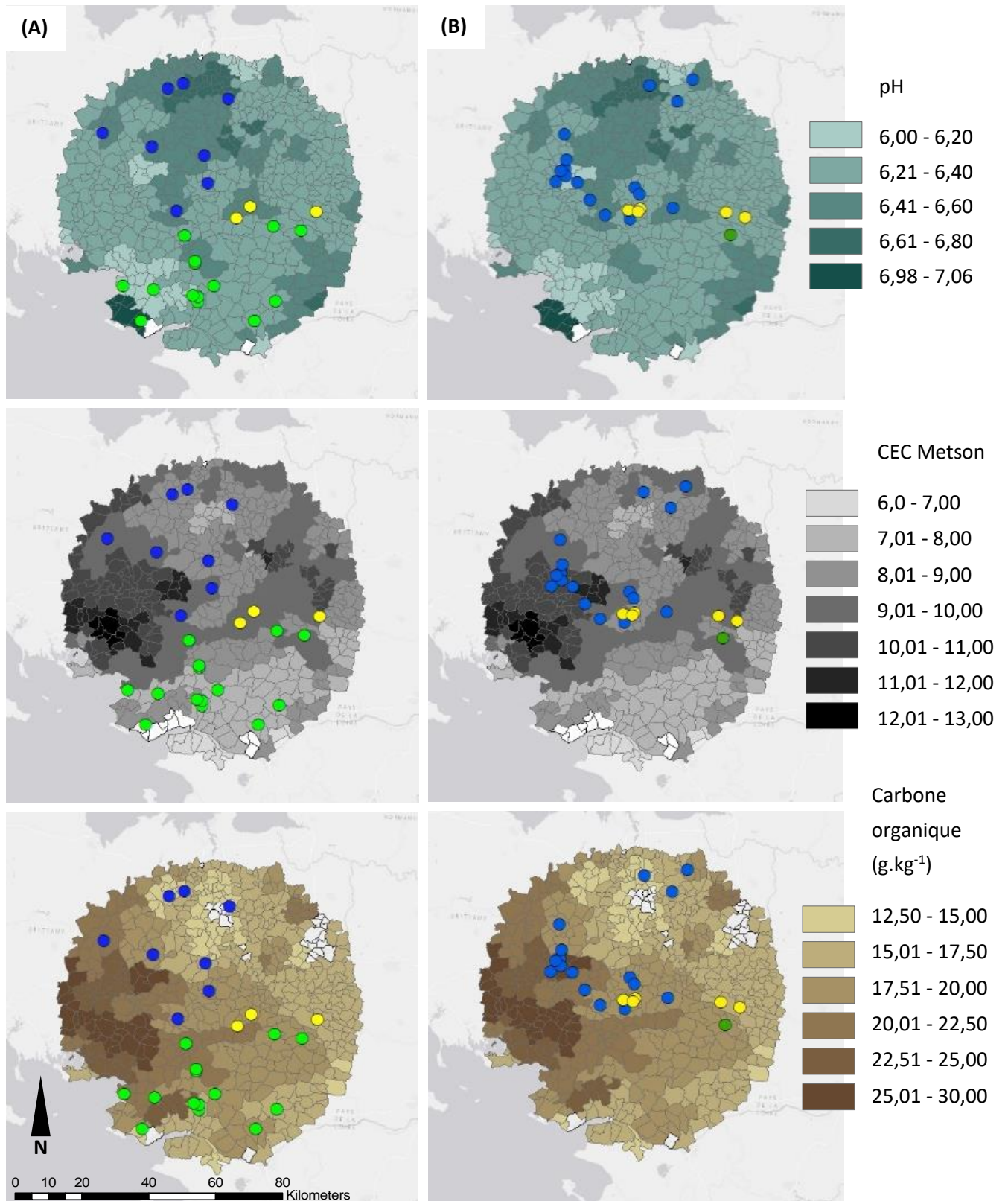


Figure A1.2 : Représentation des propriétés des sols (pH, CEC et matière organique) par canton pour les exploitations adhérentes d'Agrial (en vert), Eureden (en bleu) et Terrena (en jaune) utilisées pour sélectionner les parcelles de l'expérimentation menée dans (A) le **jeu de données 1** et (B) le **jeu de données 2**.

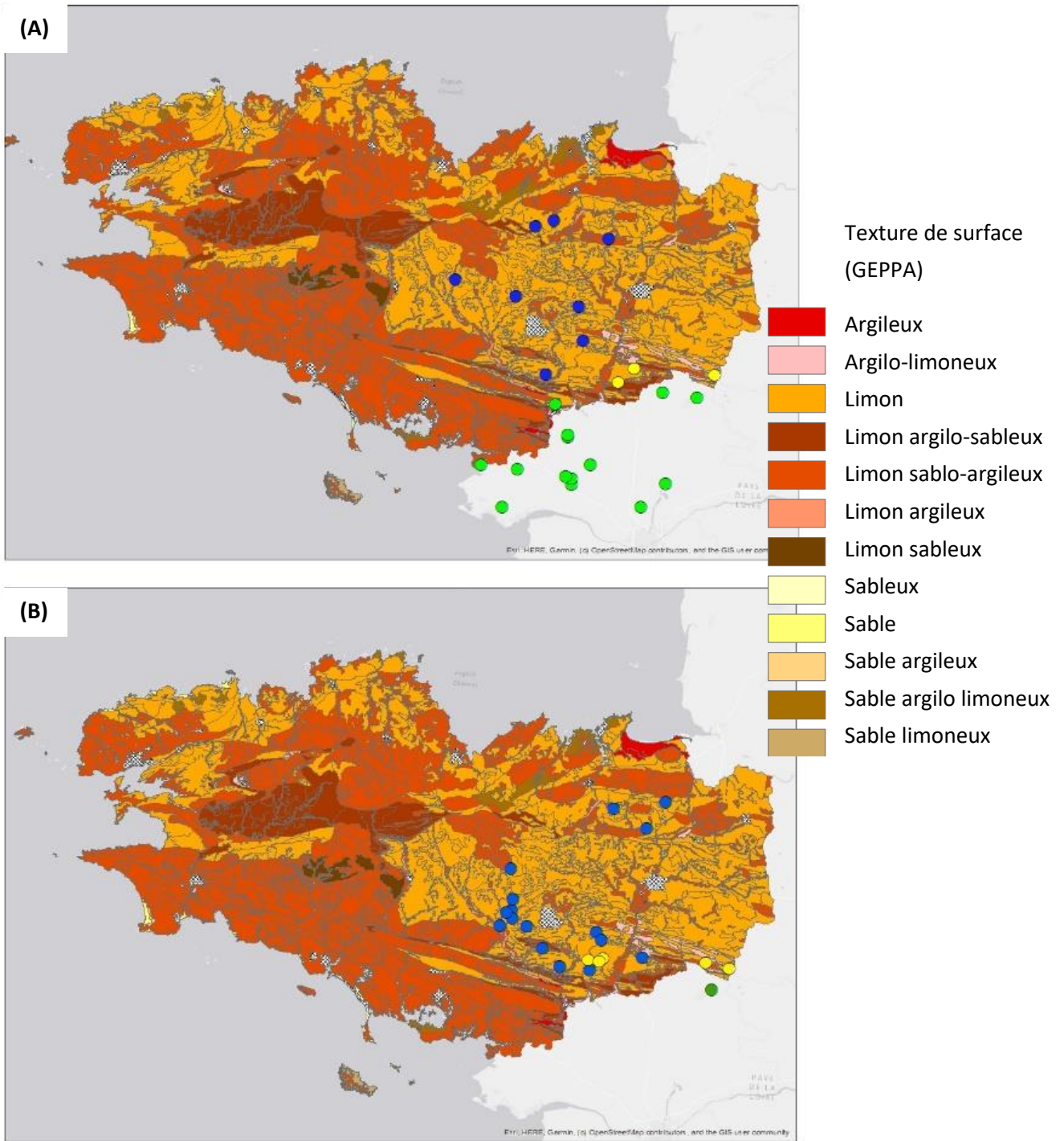


Figure A1.3 : Représentation de la texture des sols pour les exploitations adhérentes d'Agrial (en vert), Eureden (en bleu) et Terrena (en jaune) utilisées pour sélectionner les parcelles de l'expérience menée dans (A) le jeu de données 1 et (B) le jeu de données 2.

Annexes

Table A1.1 : Caractéristiques pédologiques des exploitations issues de la liste d'agriculteurs fournie pour l'étude menée dans le chapitre 4 et 5. Ces moyennes sont issues de la Base de Données des Analyses de Terre.

Exploitation	Commune	Coopérative	CEC _{Metson} (cmol ⁺ .kg ⁻¹)	C _{organique} (g.kg ⁻¹)	pH _{H2O}	Commentaire
1	Fegreac	Agrial	8,8	20,54	6,42	
2	Fegreac	Agrial	8,8	20,54	6,42	
3	Soudan	Agrial	9,28	19,37	6,3	
4	La Chapelle-sur-Erdre	Agrial	7,81	18,21	6,27	
5	Petit-Mars	Agrial	7,07	16,23	6,3	
6	Ruffigné	Agrial	9,28	19,37	6,3	
7	Asserac	Agrial	7,38	20,72	6	
8	Saint-André-des-Eaux	Agrial	8,69	17,82	6,98	
9	Guenrouet	Agrial	7,75	18,74	6,34	
10	Campbon	Agrial	7,99	17,14	6,4	
11	Campbon	Agrial	7,99	17,14	6,4	
12	Campbon	Agrial	7,99	17,14	6,4	
13	La Chapelle-des-Marais	Agrial	7,38	20,72	6	Chapitre 4
14	Maure-de-Bretagne	Eureden	9,22	18,18	6,21	
15	Yvignac-la-Tour	Eureden	9	14,72	6,47	
16	Carentoir	Eureden	9,78	19,39	6,45	
17	Saint-Etienne-du-Gué-de-l'Isle	Eureden	9,3	20,26	6,41	
18	La Chapelle-Chaussée	Eureden	7,82	-	6,53	
19	Broons	Eureden	9	14,72	6,47	
20	Mauron	Eureden	9,39	18,79	6,49	
21	Bains-sur-Oust	Eureden	9,07	20,75	6,28	
22	Treffendel	Eureden	8,32	17,28	6,42	
23	Eancé	Terrena	10,13	17,49	6,35	
24	La Noë-Blanche	Terrena	9,84	19,01	6,44	
25	Bain-de-Bretagne	Terrena	9,84	19,01	6,44	
26	Soudan	Agrial	9,28	19,37	6,3	
27	Ploërmel	Eureden	10,96	26,94	6,16	
28	Ploërmel	Eureden	10,96	26,94	6,16	
29	Maure-de-Bretagne	Eureden	9,22	18,18	6,21	
30	Tréal	Eureden	9,78	19,39	6,45	
31	Treverien	Eureden	8,18	12,97	6,65	
32	Ménéac	Eureden	9,22	18,47	6,38	
33	Noyal-sous-Bazouges	Eureden	9,35	17,7	6,41	
34	Carentoir	Eureden	9,78	19,39	6,45	
35	Mernel	Eureden	9,22	18,18	6,21	
36	Pipriac	Eureden	8,93	18,98	6,4	
37	Taupont	Eureden	10,96	26,94	6,16	Chapitre 5
38	Guipel	Eureden	8,23	15,25	6,3	
39	Bain-de-Bretagne	Eureden	9,84	19,01	6,44	
40	Guillac	Eureden	10,33	22,54	6,35	
41	Loyat	Eureden	10,96	26,94	6,16	
42	Loyat	Eureden	10,96	26,94	6,16	
43	Martigné-Ferchaud	Terrena	9,65	17,35	6,38	
44	Eancé	Terrena	10,13	17,49	6,35	
45	Bruc-sur-Aff	Terrena	8,93	18,98	6,4	
46	Pipriac	Terrena	8,93	18,98	6,4	
47	Pipriac	Terrena	8,93	18,98	6,4	

Annexe 2 : Guide d'entretien pour les enquêtes réalisées.**A. Informations générales sur l'exploitation agricole**

- Nom et forme juridique
- Nom et prénom de l'exploitant
- Adresse
- Coopérative
- Date d'installation
- Activité principale
- SAU totale
- Cahier des charges
- Travail du sol

B. Description détaillée de la (des) parcelle(s)**1. Caractéristiques de la parcelle**

- Nom de la parcelle et coordonnées GPS
- Superficie (ha)
- Topographie (pente, plateau, vallée)
- Accident ces 6 dernières années (climatiques, ravageurs, maladies, virus, utilisation de produits phytosanitaires)
- Parcelle homogène ? Si non, détail des sources d'hétérogénéité
- Autres essais sur la parcelle ?
- Plan de la parcelle si possible (route, accès, bordures, haies)

2. Conditions environnementales**2.1. Conditions pédologiques**

- Texture
- Structure (friable, grumeleuse, compacte)
- Profondeur (distance à la roche mère)
- Stabilité structurale (battance, pierrosité, érosion, problèmes hydriques)
- Analyses de sol ? Date ?

MO (%)	Corg (g/Kg)	pH	CEC (meq/100g)	Polsen (g/Kg)	Ntot (g/Kg)	C/N

3. Mode de gestion de la parcelle

3.1. Rotation actuelle

- Durée de la rotation
- Succession des cultures dans la rotation
- Couverts et espèces dans le(s) couvert(s)

Tableau récapitulatif de la rotation au cours du temps

Position dans la rotation	Culture	Couvert ?	Détail espèces du couvert
1			
...			

3.2. ITK n-1 (2019-2020)

- Culture
- Rendement
- Résidus de culture / pailles (enfouissement, surface...)
- Fertilisation (minérale, mixte)
- Travail du sol (labour, TCS)
- Remarques diverses par rapport à cette culture (observations, accident...)

3.3. ITK n (2020-2021)

- Fertilisation

Minérale

Nom commercial complet	Date	Formule (%N,%P,%K)	NPK	Quantité à l'ha (kg/ha, U/ha)	Quantité totale sur la parcelle

Apports de calcaire ? (chaux, craie, dolomie, scories potassiques, dose kg/ha)

Apports organiques ? Nature (fumier, lisier, composte), date, quantité apportée à l'ha

- Travail du sol

Outil	Date	But de l'opération	Profondeur

Problèmes de tassement du sol ?

Opération de désherbage mécanique en 2020-2021 ?

- **Traitements phytosanitaires (fongicides, herbicides, insecticides)**

Nom commercial complet	Molécule active	Date	Cible	Dose appliquée (L/ha, kg/ha, volume, bouillie/ha)	Surface traitée (ha)

Dates fongicides prévus

Opération de désherbage thermique en 2020-2021 ?

4. Informations sur la culture de blé

- Traitement des semences
- Densité, écartement et date de semis
- Rendements précédents en blé
- Objectif de rendement 2021
- Salissement de la parcelle (intensité, espèces)
- Estimation date de récolte été 2021
- Remarques diverses par rapport à cette culture (observations, accident...)

5. Participation au projet

- Que pensez-vous de ce projet ?
- Accepteriez-vous que l'on réalise quelques prélèvements sur vos parcelles au stade épiaison du blé ?

Annexe 3 : Dispositifs rhizoboxes et protocole de remplissage du substrat

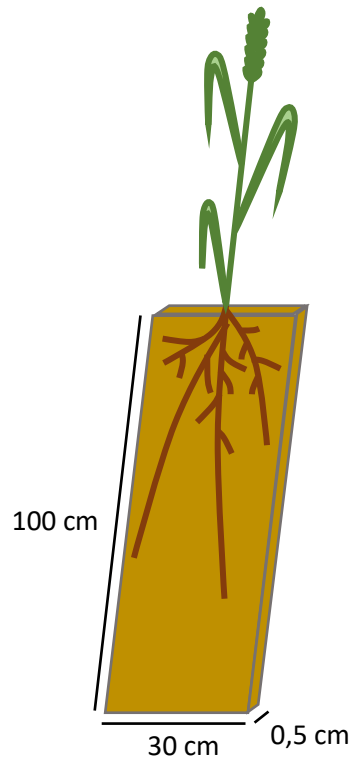


Figure A3.1 : Représentation schématique du dispositif rhizobox utilisé pour l'expérimentation en conditions contrôlées et des dispositifs de maintien dans le phytotron.



Figure A3.2 : Protocole de remplissage du substrat dans les rhizoboxes.

Titre : Caractérisation et analyse prospective de la contribution de l'effet rhizosphère aux performances du blé (*Triticum aestivum*) en contexte de polyculture-élevage

Mots clés : Racine ; enzyme ; microbiome ; modélisation ; pratiques agricoles

Résumé : Face aux enjeux sociétaux, environnementaux et d'érosion de la biodiversité, la reconception des systèmes de cultures mobilisant les interactions écologiques en place des intrants est cruciale à développer. L'interface sol-plante présente un intérêt majeur car elle héberge une diversité de processus impliqués dans la nutrition et la santé des plantes. L'effet rhizosphère induit par les plantes est très dynamique, et influencé non seulement par le type de sol ou l'espèce cultivée mais également par les pratiques agricoles. Dans une approche combinant expérimentation et modélisation statistiques par équation structurale, cette thèse a permis de développer des indicateurs de fonctionnement de la rhizosphère du blé (*Triticum aestivum* var Absalon) au cours du cycle de développement de la plante. La méthodologie appliquée a permis de mettre en avant des effets synergiques de la diversification des cultures au cours de la succession avec le travail réduit du sol afin de promouvoir l'effet rhizosphère. Enfin, ce travail a permis de mettre en évidence un schéma structurel causal commun entre les conditions contrôlées et le terrain grâce à la modélisation par équation structurales. En conclusion, ce travail de thèse menée en collaboration avec les adhérents de trois coopératives permet d'ouvrir des perspectives de conception et d'évaluation des systèmes de cultures agroécologiques à bas intrants basés sur l'effet rhizosphère.

Title : Characterization and prospective analysis of the contribution of the rhizosphere effect to the performance of wheat (*Triticum aestivum*) in a mixed crop-livestock context

Keywords : Root, enzyme, microbiome, modelling, agricultural practices

Abstract : Faced with societal and environmental challenges and loss of biodiversity, the redesign of cropping systems mobilizing ecological interactions instead of synthetic inputs is crucial to develop. The soil-plant interface influenced by root activities is of major interest because it harbors a diversity of processes involved in plant nutrition and health. However, the rhizosphere effect induced by plants is very dynamic, and influenced not only by soil type or crop species but also by agricultural practices. In an approach combining experimentation and statistical modeling by structural equations, indicators of rhizosphere functioning in wheat (*Triticum aestivum* var Absalon) were developed. The applied methodology allowed to put forward synergistic effects of crop diversification during the succession with reduced tillage in order to promote the rhizosphere effect. Finally, we highlighted a common scheme of causal structure between controlled conditions and the field by structural equation modeling that pave the way for further development of rhizosphere indicators. In conclusion, this thesis work carried out in collaboration with the members of three cooperatives opens perspectives for the design and evaluation of low-input agroecological cropping systems.