



**HAL**  
open science

# Etude de l'impact des pratiques agricoles sur les capacités fonctionnelles des communautés microbiennes en lien avec le recyclage de la matière organique

Oceane Geisler

► **To cite this version:**

Oceane Geisler. Etude de l'impact des pratiques agricoles sur les capacités fonctionnelles des communautés microbiennes en lien avec le recyclage de la matière organique. Microbiologie et Parasitologie. 2019. hal-02548957

**HAL Id: hal-02548957**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-02548957>**

Submitted on 21 Apr 2020

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

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

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES

Master Microbiologie

Orientation *Microbiologie Environnementale et Sanitaire*

Etude de l'impact des pratiques agricoles sur les  
capacités fonctionnelles des communautés  
microbiennes en lien avec le recyclage de la  
matière organique

Mémoire présenté par :

GEISLER Océane

Stage effectué du 1 Février au 31 Juillet 2019

Encadré par TERRAT Sébastien, Maître de Conférences

Equipe BIOCUM Unité Agroécologie

Centre INRA de Bourgogne-Franche-Comté

17 rue Sully 21000 DIJON



# Remerciements

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce à plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toute ma reconnaissance.

Je tiens tout d'abord à remercier Philippe Lemanceau, directeur de l'UMR Agroécologie de l'INRA de Dijon ainsi que Lionel Ranjard, responsable de l'équipe BIOCOM pour m'avoir permis de réaliser ce stage de fin d'étude.

Je ne pourrais jamais assez remercier Sébastien Terrat, pour m'avoir encadrée pendant ces 6 mois de stage. Merci de m'avoir consacré du temps et apportée ton aide pour la rédaction de ce mémoire. Merci pour ta patience mais aussi pour ta pédagogie notamment lorsque tu m'as appris à manipuler RStudio. Finalement tu avais raison, c'est (presque) plaisant de travailler sur ce logiciel.

Un énorme merci à toutes les personnes qui m'ont aidé dans la réalisation de ce stage. Merci à Julie Tripied pour m'avoir formée aux différentes manipulations que j'ai été amenée à réaliser durant ces 6 mois. Merci à Olivier Mathieu pour l'analyse de mes nombreuses fioles de gaz. Un double merci à Battle Karimi et Samuel Dequiedt pour m'avoir formée aux analyses statistiques ainsi que votre aide pour résoudre mes problèmes de scripts. Merci également à Pierre-Alain Maron d'avoir toujours su être disponible pour répondre à mes questions et discuter de mes résultats.

Je tiens particulièrement à remercier les personnes qui ont partagé mon bureau. Merci à Christopher, Charles et Gaëlle pour cette bonne ambiance au travail. Je n'oublierais pas nos moments de rigolade à base de post-\*it\* et de pâté rose ni toutes nos chansons. Je remercie Julie, Vivi, Mélanie, Solène et Sophie pour leur bonne humeur dès le matin à la pause café. Merci Marine pour toutes ces discussions partagées au cours des manip'. Enfin, merci à Battle, Chloé, Caro, Christophe, Charles, Christopher, Gaëlle pour toutes nos soirées...

## Liste des abréviations

**<sup>13</sup>C** : Carbone 13 isotopique

**ADN** : Acide Désoxyribo Nucléique

**ADNr** : ADN ribosomique

**BET** : Bromure d'ETHidium

**C** : Carbone

**CAPAC** : CAPacité Au Champs

**Ct** : cycle threshold

**EDTA** : Ethylène Diamine Tétracétique

**INRA** : Institut National de la Recherche Agronomique

**Kb** : Kilobases

**MO** : Matière Organique

**PE** : Priming Effect

**pH** : potentiel Hydrogène

**qPCR** : quantitative Polymerase Chain Reaction (Amplification en chaîne par polymérase quantitative)

**Rc** : Respiration contrôle

**Rr** : Respiration résidu

**Rs** : Respiration sol

**Rt** : Respiration totale

**SDS** : Sodium Dodécyl Sulfate

**SOERE-ACBB** : Système d'Observation et d'Expérimentation sur le long terme pour la Recherche en Environnement – Agro-écosystèmes Cycles Biogéochimiques et Biodiversité

**TBE** : Tris Borate EDTA

**TE** : Tris EDTA

**UMR** : Unité Mixte de Recherche

**UP** : Ultra Pure

**UV** : UltraViolet

# Table des matières

<b>I. INTRODUCTION</b>	<b>1</b>
<b>1. PRESENTATION DE L'ORGANISME D'ACCUEIL</b>	<b>1</b>
<b>2. LE SOL, UN MILIEU COMPLEXE, FONCTIONNEL ET VIVANT</b>	<b>1</b>
A. NATURE ET FONCTION DU SOL	1
B. LA BIODIVERSITE DES SOLS	3
<b>3. LA DEGRADATION DE LA MATIERE ORGANIQUE, PROCESSUS CENTRAL DU CYCLE DU CARBONE</b>	<b>5</b>
A. LES MICROORGANISMES, DES DECOMPOSEURS DE LA MATIERE ORGANIQUE	5
B. MICROORGANISMES ET PRIMING EFFECT	6
<b>4. OBJECTIFS DU STAGE</b>	<b>8</b>
<b>II. MATERIELS ET METHODES</b>	<b>9</b>
<b>1. DESCRIPTION DU SITE ET ECHANTILLONNAGE DU SOL</b>	<b>9</b>
<b>2. MISE EN PLACE DES MICROCOSMES</b>	<b>9</b>
<b>3. PRELEVEMENTS ET MESURES DE GAZ</b>	<b>10</b>
<b>4. EXTRACTION D'ADN</b>	<b>11</b>
<b>5. DETERMINATION DE LA BIOMASSE MICROBIENNE</b>	<b>12</b>
<b>6. PURIFICATION D'ADN ET DOSAGE PAR FLUORESCENCE</b>	<b>13</b>
<b>7. CARACTERISATION DE LA DENSITE MICROBIENNE</b>	<b>14</b>
<b>8. ANALYSES STATISTIQUES</b>	<b>15</b>
<b>III. RESULTATS</b>	<b>16</b>
<b>1. BIOMASSE MICROBIENNE</b>	<b>16</b>
<b>2. DENSITE MICROBIENNE</b>	<b>16</b>
<b>3. RESPIRATION DU SOL EN REPOSE A L'APPORT DE RESIDUS DE BLE</b>	<b>20</b>
<b>IV. DISCUSSION</b>	<b>24</b>
<b>1. IMPACT DES PRATIQUES AGRICOLES SUR LES COMMUNAUTES MICROBIENNES</b>	<b>24</b>
A. EVOLUTION DE LA BIOMASSE MICROBIENNE EN REPOSE AUX PRATIQUES AGRICOLES	24
B. EVOLUTION DES COMMUNAUTES FONGIQUES ET BACTERIENNES EN REPOSE AUX PRATIQUES AGRICOLES	25
<b>2. IMPACT DES PRATIQUES AGRICOLES SUR L'ACTIVITE MICROBIENNE DANS LE SOL</b>	<b>27</b>
<b>3. INFLUENCE DES COMMUNAUTES MICROBIENNES DANS LA RESPIRATION DES SOLS LIE AUX PRATIQUES AGRICOLES</b>	<b>28</b>
<b>V. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES</b>	<b>30</b>

## I. Introduction

### 1. *Présentation de l'organisme d'accueil*

L'INRA, premier institut de recherche agronomique en Europe, est un organisme public de recherche implanté sur le territoire français. Parmi les 17 centres régionaux de recherche, le centre Dijon de Bourgogne Franche-Comté axe ses recherches sur le goût et l'alimentation, les territoires et l'agroécologie.

Le centre INRA de Dijon est composé de 5 unités de recherches notamment l'UMR Agroécologie qui accueille le pôle Biologie et fonctions écosystémiques des sols (BIOME). Les chercheurs de ce pôle explorent les communautés microbiennes et les interactions biotiques menant aux différentes fonctions des sols dans le but d'identifier des leviers agroécologiques limitant l'utilisation d'intrants chimiques.

Au sein de ce pôle, l'équipe BIOCOCOM « Distribution spatiale, dynamique et traduction fonctionnelle de la biodiversité des communautés microbiennes telluriques » réalise des recherches sur le déterminisme spatial et temporel des communautés microbiennes du sol ainsi que sur le rôle de la diversité microbienne dans la fertilité du sol et la qualité de l'air. Bien connaître les communautés microbiennes des sols à grandes échelles permet de mettre en place des diagnostics microbiologiques de la qualité des sols en vue d'une gestion durable des écosystèmes.

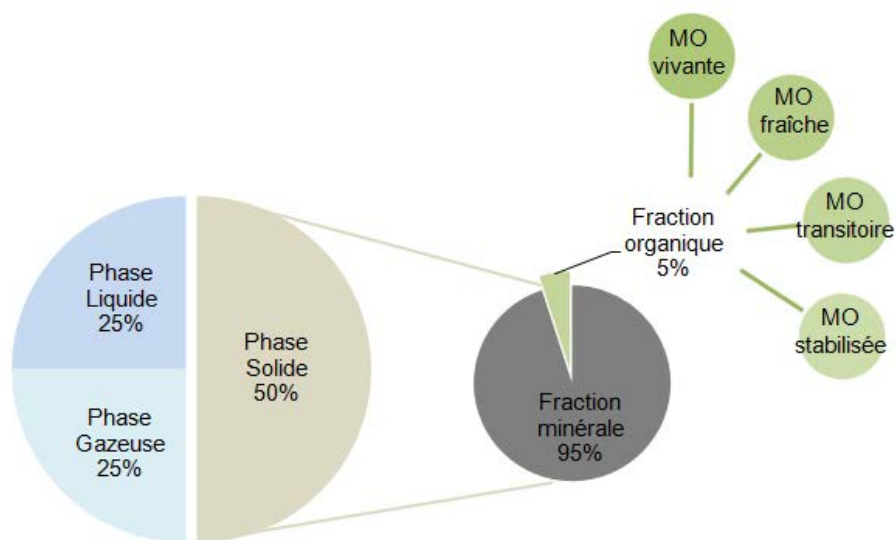
### 2. *Le sol, un milieu complexe, fonctionnel et vivant*

#### a. **Nature et fonction du sol**

Le sol est la couche superficielle de l'écorce terrestre, fruit de la transformation de la roche mère sous-jacente par action de nombreux processus de nature physique, chimique mais aussi biologique, selon Albert Demolon, agronome et pédologue du XXème siècle.

Le sol, situé à l'interface entre la lithosphère, l'atmosphère, l'hydrosphère et la biosphère, constitue une matrice hétérogène et complexe (Gobat *et al.*, 2010) composée d'une phase solide, liquide et gazeuse (Figure 1). La phase solide présente une fraction minérale et une fraction organique. La fraction minérale, issue de la dégradation de la roche mère est constituée de sables (particules de 50µm à 2mm), de limons (2 à 50µm) et d'argiles (< 2µm). La composition minérale du sol détermine sa texture. La fraction organique est composée de (i) matières organiques (ou MO) vivantes d'origine animale,

végétale, ou microbienne ; de (ii) MO fraîches provenant de la décomposition et du métabolisme des êtres vivants (résidus de végétaux, exsudats, déjections, etc.) ; de (iii) MO transitoires correspondant à la transformation de la MO fraîche et de (iv) MO stabilisées (humus) qui est le produit final de l'évolution de la MO (Manlay *et al.*, 2007). L'interaction entre les fractions organiques et minérales est à l'origine des caractéristiques chimiques du sol (pH, disponibilité des nutriments, etc.) et de la formation des agrégats déterminant la structure du sol. L'organisation des agrégats créent des pores qui accueillent les phases liquide et gazeuse. La phase liquide est composée d'eau et d'éléments solubles tels que les ions et les acides organiques. La phase gazeuse est constituée de l'air atmosphérique ainsi que des gaz émis par l'activité biologique des sols (Gobat *et al.*, 2010).



**Figure 1. Différentes phases constituant le sol.** Les pourcentages du graphique en secteurs de gauche représentent le volume du sol et ceux de droite représentent sa masse.

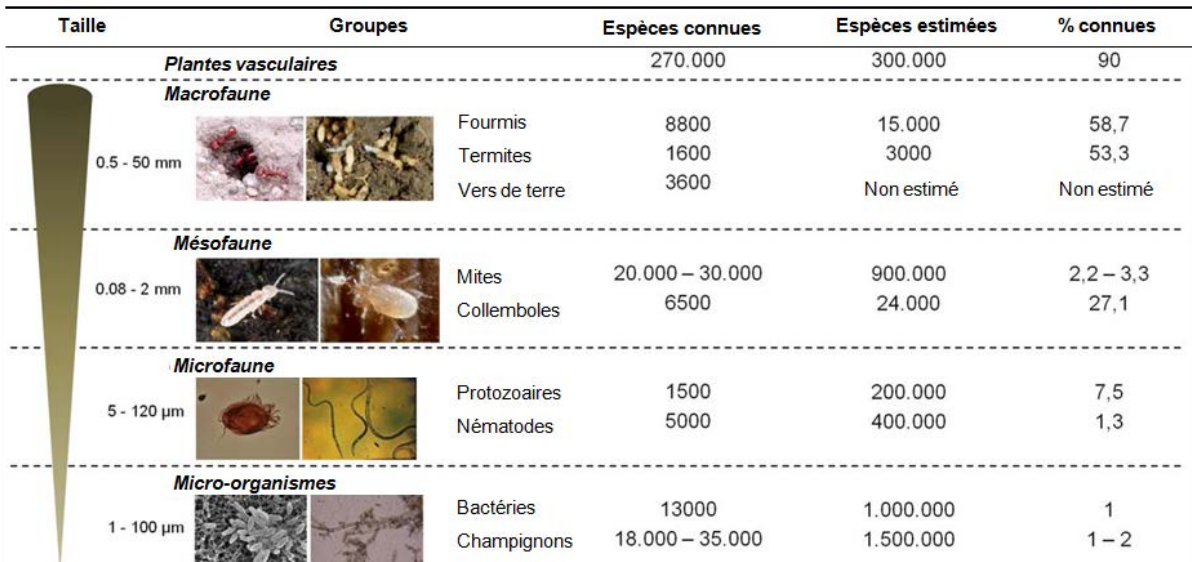
De par sa position d'interface, le sol est impliqué dans de nombreuses fonctions environnementales parmi lesquelles : (i) le cycle du carbone, (ii) le recyclage des nutriments, (iii) le maintien de la structure du sol (agrégation, transport de particules, formation de réseaux poreux) et (iv) la régulation des populations invasives (Kibblewhite *et al.*, 2008 ; Bender *et al.*, 2016 ; Li *et al.*, 2018). Ces quatre fonctions sont ainsi à la source de tous les services écosystémiques fournis par les sols comme : (i) les services







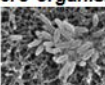




d’approvisionnement en nourriture, eau, bois et fibres, (ii) les services de régulation du climat, de l’air et de l’eau, ou des maladies, (iii) les services de support avec la formation du sol et les cycles des nutriments (iv) et pour finir le service culturel qui apporte des bénéfices à valeur esthétique, spirituelle et éthique (Millennium Ecosystem Assessment, 2005). La matrice qu’est le sol représente également une ressource immense de biodiversité, qui est à la base de la plupart des fonctions et des services rendus par les sols.

### b. La biodiversité des sols

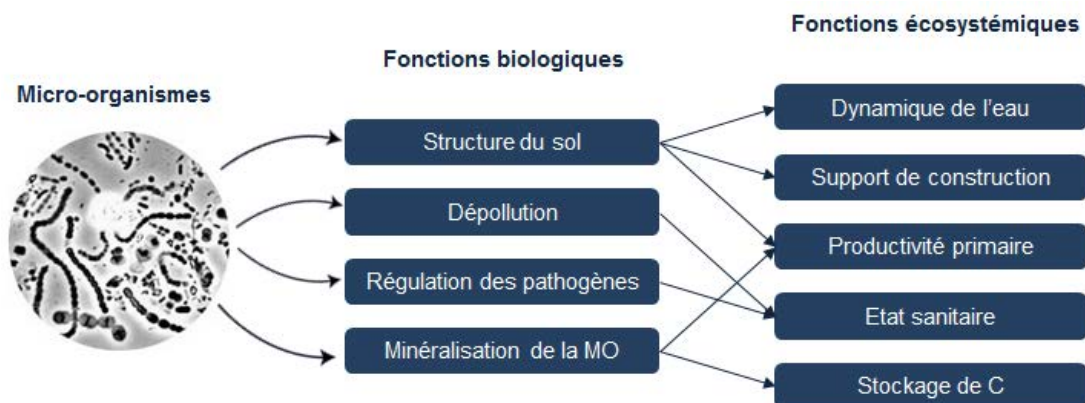
Le sol présente une multitude de micro-environnements pouvant abriter une très grande diversité d’organismes (Fierer and Jackson, 2006). Ces organismes sont généralement classés selon leur taille (Figure 2). On retrouve la partie souterraine des plantes vasculaires, la macrofaune, la mésofaune, la microfaune et les micro-organismes (Giller *et al.*, 1997 ; Bender *et al.*, 2016). Le compartiment microbien domine la biodiversité des sols avec jusqu’à  $10^6$  cellules fongiques et  $10^9$  cellules bactériennes contenues dans 1g de sol. Ces dernières regroupent généralement des centaines de milliers de taxons, selon les dernières estimations (Tardy *et al.*, 2015a ; Maron *et al.*, 2018).



Taille	Groupes	Espèces connues	Espèces estimées	% connues
	<b>Plantes vasculaires</b>	270.000	300.000	90
<b>Macrofaune</b>				
0.5 - 50 mm	 Fourmis	8800	15.000	58,7
	 Termites	1600	3000	53,3
	 Vers de terre	3600	Non estimé	Non estimé
<b>Mésafaune</b>				
0.08 - 2 mm	 Mites	20.000 – 30.000	900.000	2,2 – 3,3
	 Collemboles	6500	24.000	27,1
<b>Microfaune</b>				
5 - 120 µm	 Protozoaires	1500	200.000	7,5
	 Nématodes	5000	400.000	1,3
<b>Micro-organismes</b>				
1 - 100 µm	 Bactéries	13000	1.000.000	1
	 Champignons	18.000 – 35.000	1.500.000	1 – 2

**Figure 2. Estimation de la biodiversité du sol organisée en fonction de la taille des organismes. (Adapté de Tardy V, 2014)**

Cette grande biodiversité d'organismes est fortement impliquée dans le fonctionnement du sol et dans de nombreux processus écologiques fondamentaux (Figure 3) (Fierer and Jackson, 2006 ; Bissett *et al.*, 2011). Les communautés microbiennes participent à la qualité structurale des sols en contribuant à la formation d'agrégats (Gobat *et al.*, 2010 ; Bissett *et al.*, 2011 ; Le Guillou *et al.*, 2012). Ils prennent également part à la qualité de l'eau en favorisant son infiltration, sa régulation mais également sa purification (Coleman and Whitman, 2005 ; Barrios, 2007 ; Bissett *et al.*, 2011). Certaines populations microbiennes sont impliquées dans l'état sanitaire du sol en régulant la présence et le développement des pathogènes de l'homme, des animaux et des plantes (Creamer *et al.*, 2016). Enfin, les communautés microbiennes sont les acteurs majeurs des cycles biogéochimiques du carbone, de l'azote, du phosphore, et du soufre (Bissett *et al.*, 2011 ; Maron *et al.*, 2011 ; Bender *et al.*, 2016). L'intervention de la biodiversité dans ces différentes fonctions leur donnent un rôle central dans la fertilité des sols (Maron *et al.*, 2018).



**Figure 3. Quelques rôles et fonctions des micro-organismes dans les sols.** (Adapté de Karimi B, 2018)

Cependant le sol est un environnement dynamique. La distribution de la diversité microbienne dans les sols est variable dans le temps et dans l'espace, depuis l'agrégat jusqu'à l'échelle globale, et est influencée par des facteurs biotiques (diversité des plantes) et abiotiques tels que les caractéristiques physico-chimiques (contenu en MO, pH, *etc.*), microclimatiques (température, humidité) ou encore les activités humaines (Jangid *et al.*, 2008 ; Lemanceau *et al.*, 2015 ; Thomson *et al.*, 2015). Néanmoins, les différents groupes

microbiens ne sont pas influencés par les mêmes paramètres. Notamment les bactéries sont connues pour être principalement liées au pH du sol tandis que les champignons sont majoritairement corrélés au carbone des sols (Thomson *et al.*, 2015).

Du fait de l'implication des microorganismes dans le fonctionnement écosystémique, ce sont de bons indicateurs de qualité des sols. Différents outils permettant leur diagnostic ont été développés afin de réaliser des analyses de routine. Grâce à des approches moléculaires, il est possible de déterminer : (i) la biomasse moléculaire microbienne par quantification de l'ADN microbien présent dans le sol. La biomasse permet d'estimer l'abondance totale des microorganismes du sol. (ii) Le rapport de densité entre les communautés fongiques et bactériennes (rapport F/B) via la quantification du nombre de champignons et de bactéries (séparément) dans chaque échantillon. Ce rapport F/B s'assure d'un équilibre microbien caractéristique de la stabilité du sol. (iii) La diversité microbienne qui permet d'identifier les espèces microbiennes (richesse) présentes. (iv) Ainsi que la structure des communautés basée sur l'abondance relative des taxons les uns par rapport aux autres. Un autre type d'approche qui repose sur la fonctionnalité des microorganismes peut être mesuré, celle-ci se basant sur l'implication des communautés microbiennes dans le cycle du carbone.

### **3. La dégradation de la matière organique, processus central du cycle du carbone**

#### **a. Les microorganismes, des décomposeurs de la matière organique**

La décomposition de la MO est un processus fondamental du cycle du carbone. La dynamique des stocks de carbone des sols est régie par les flux entrants et sortants. La MO fraîche provenant principalement de résidus végétaux est dégradée et stockée dans le sol. La matière non-stockée est minéralisée, c'est à dire transformée en éléments nutritifs assimilables par les plantes et microorganismes (Bender *et al.*, 2016). La minéralisation, principalement réalisée par les microorganismes hétérotrophes du sol, est une réaction d'oxydation. Du dioxyde de carbone va alors être émis dans l'atmosphère *via* la respiration microbienne au détriment de l'environnement (Lemanceau *et al.*, 2015 ; Tardy *et al.*, 2015a ; Don *et al.*, 2017).

Le taux de minéralisation de la MO est déterminée par différents facteurs tels que la qualité de la MO (labile ou récalcitrante), mais aussi sa biodisponibilité ou le microclimat (Don *et al.*, 2017 ; Li *et al.*, 2018). La biomasse microbienne présente dans le sol ainsi que la structure des communautés va également avoir des répercussions sur le taux de

minéralisation de la MO. En effet, il a été démontré qu'un apport de MO fraîche entraîne généralement une augmentation de biomasse microbienne au cours de la première phase de dégradation (Pascault *et al.*, 2013). Baumann *et al.* (2013) ont étudié les effets d'une réduction de diversité microbienne sur différents composés de MO (caractérisés par différents substrats carbonés plus ou moins complexes). Ils ont montré qu'avec une diversité plus faible, une plus faible proportion de substrat carboné facilement dégradé est consommée, ce qui suggère qu'une meilleure complémentarité fonctionnelle augmente la minéralisation. La biodiversité microbienne est donc corrélée positivement à la dégradation de la MO (Bender *et al.*, 2016).

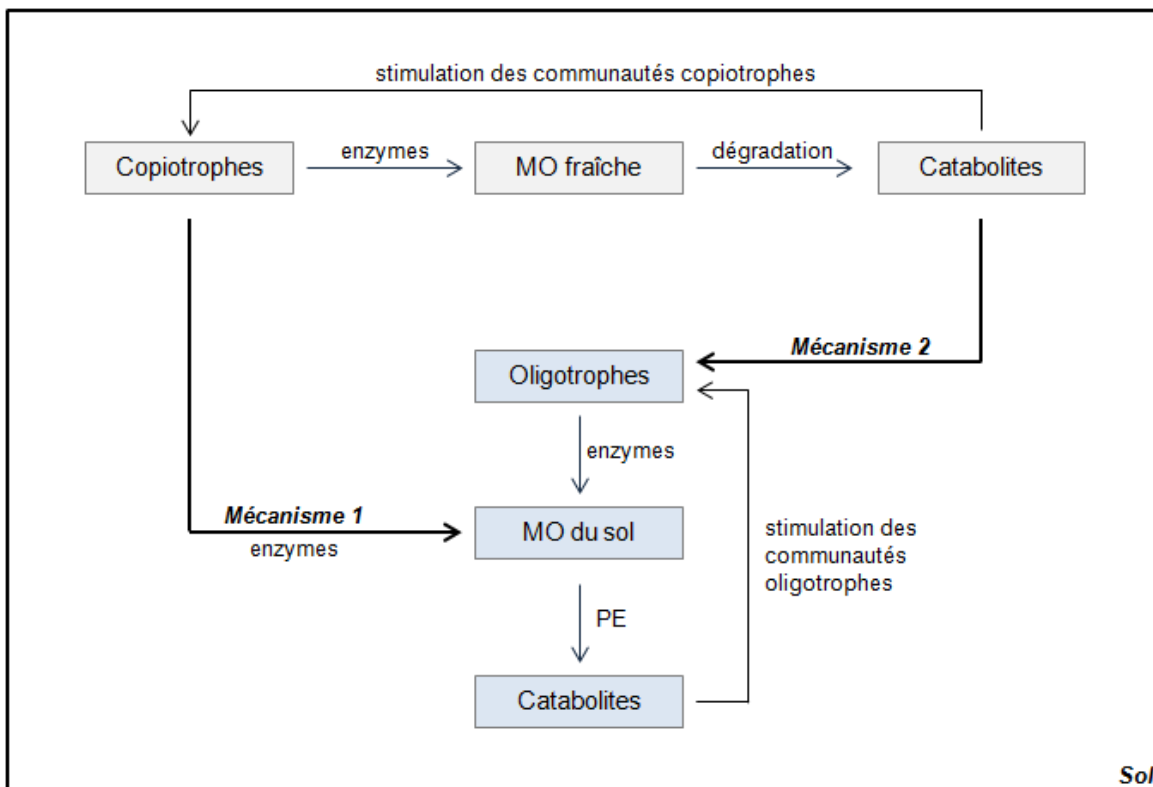
Au cours du temps, la MO du sol est dégradée en molécules de plus en plus petites par action des communautés microbiennes. Ces sous-produits de dégradation ont des propriétés différentes, c'est pourquoi diverses populations microbiennes avec des capacités métaboliques propres sont nécessaires pour assurer les étapes de décomposition de la MO du sol (Fierer *et al.*, 2007 ; Williams *et al.*, 2007 ; Bernard *et al.*, 2009 ; Pascault *et al.*, 2010 ; Pascault *et al.*, 2013 ; Baumann *et al.*, 2013). Lors de la dégradation de la MO, on assiste donc à une succession ordonnée et progressive de populations microbiennes (Tardy *et al.*, 2015a). Les populations microbiennes copiotrophes, considérées comme opportunistes, interviennent dès l'entrée de MO fraîche dans le sol. Grâce à leur capacité à dégrader préférentiellement la MO labile (sucres simples, amidon, composés solubles) qui est facilement dégradable, elles peuvent croître rapidement et coloniser le milieu. Puis, au cours des stades avancés de la dégradation de la MO, ce sont les populations microbiennes oligotrophes, caractérisées par un taux de croissance plus faible et de meilleures capacités cataboliques, qui entrent en jeu. A travers leur production d'enzymes spécifiques, elles sont spécialisées dans la dégradation de la fraction récalcitrante de la MO fraîche qui n'a pas pu être dégradée par les populations copiotrophes (Fierer *et al.*, 2007 ; Poll *et al.*, 2008 ; Pascault *et al.*, 2013 ; Van Der Wal *et al.*, 2013 ; Don *et al.*, 2017 ; Tian *et al.*, 2017).

La composition taxonomique et la contribution des communautés fongiques et bactériennes à la dégradation de la MO sont encore peu étudiées (Tardy *et al.*, 2015a) mais semblent refléter la balance minéralisation/séquestration de MO dans le sol.

### **b. Microorganismes et Priming Effect**

Certaines études ont observé une sur-minéralisation de la MO native du sol après ajout de MO fraîche (Fontaine *et al.*, 2003). Ce phénomène a été appelé "Priming Effect"

(ou PE). Selon Fontaine *et al.* (2003), le PE dépend principalement de la dynamique des populations impliquées dans la dégradation de la MO (Figure 4). Due à leur croissance rapide, les copiotrophes sont les premiers à synthétiser des enzymes extracellulaires pour dégrader et utiliser la MO fraîchement ajoutée. Ces enzymes sont capables de dégrader la MO native du sol par des réactions spécifiques ou par co-métabolisme (Figure 4, Mécanisme 1) sous réserve qu'elle présente des similarités biochimiques avec la MO fraîche ajoutée. Lorsque la MO labile a été consommée par les copiotrophes, les oligotrophes s'attaquent aux substrats plus complexes (MO récalcitrante). La stratégie des oligotrophes est donc d'utiliser les catabolites des copiotrophes dans le but d'accroître leur métabolisme et ainsi produire des enzymes plus spécifiques visant à dégrader la MO récalcitrante du sol (Figure 4, Mécanisme 2). Un PE lié à la minéralisation de la MO est plus fort dans des conditions faibles en nutriments, dû à l'activité tardive des oligotrophes (Fontaine *et al.*, 2013).



**Figure 4. Potentiels mécanismes conduisant au PE.** Mécanisme 1 : Production d'enzymes extracellulaires, par les populations copiotrophes, efficaces à la dégradation de la MO fraîche mais pouvant également dégrader la MO du sol. Mécanisme 2 : une partie des produits de dégradation de la MO fraîche peut être utilisée par les organismes oligotrophes afin d'augmenter leur métabolisme, se multiplier et produire des enzymes spécifiques à la dégradation de la MO du sol plus complexe et ainsi augmenter le taux de décomposition de celle-ci. (Adapté de Fontaine *et al.*, 2003)

#### 4. Objectifs du stage

Il a également été démontré que la sur-minéralisation de la MO observée est influencée d'une part par les pratiques agricoles (Pascault *et al.*, 2013 ; Tardy *et al.*, 2015b) et d'autre part par les paramètres environnementaux (Perveen *et al.*, 2019). De plus, les études menées par Fontaine *et al.* (2007, 2011) mettent en évidence le lien entre les populations microbiennes et l'intensité du PE. L'hypothèse de recherche émise serait alors que les pratiques agricoles impactent le PE au travers des communautés microbiennes. De ce fait, ce stage a pour but de déterminer comment la minéralisation de la MO est influencée par des sols soumis à différentes pratiques de culture *via* les microorganismes.

Pour répondre à cet objectif, la stratégie mise en place repose sur une expérimentation en conditions contrôlées (en microcosmes). Ces conditions simplifiées ont pour intérêt d'écartier toute influence de facteurs environnementaux afin de donner un premier aperçu du potentiel d'activité des communautés microbiennes sur un site donné (Creamer *et al.*, 2016). Le potentiel d'activité est déterminé par le biais d'analyses moléculaires (biomasse et densité microbienne) et fonctionnelles (dosage de gaz). Ces différentes mesures seront alors uniquement dépendantes des pratiques agricoles appliquées sur les sols étudiés.

## II. Matériels et méthodes

### 1. *Description du site et échantillonnage du sol*

L'expérimentation mise en place repose sur des sols issus de l'observatoire expérimental SOERE-ACBB basé à Lusignan dans l'Ouest de la France (46°25'12.91"N, 0°07'29.35"E). Le sol est de type Brunisol, il est associé à un climat de type océanique avec une température annuelle moyenne de 12°C et des précipitations de l'ordre de 750mm/an. Ce site SOERE-ACBB est un observatoire à long terme (historique cultural > 20 ans) caractérisé par différents motifs d'alternance, prairies temporaires et rotation de cultures céréalières. Pour une meilleure visualisation des impacts agronomiques, un gradient d'intensification fortement contrasté a été choisi. L'une des parcelles sélectionnées est caractérisée par une prairie permanente soumise à 3-4 fauches annuelles et une fertilisation (nitrate d'ammonium : 150 - 300 kg/ha/an). Sur l'autre parcelle est appliquée un système de rotation de cultures annuelles (maïs, blé, orge) avec un labour annuel, un traitement herbicide et une fertilisation (nitrate d'ammonium : 100kg/ha/an). Les 2 parcelles sont uniquement séparées géographiquement par un chemin de 5m afin de s'assurer que les résultats obtenus ne soient pas liés à l'hétérogénéité spatiale. L'échantillonnage a été réalisé en Janvier 2019, pour les deux sols étudiés (prairie et culture), une sous-parcelle de 0,2 x 0,2m est désherbée et excavée sur une profondeur de 10cm. Après échantillonnage, les sols sont tamisés à 4mm.

### 2. *Mise en place des microcosmes*

Avant la mise en place des microcosmes une étape préliminaire consiste à déterminer le taux d'humidité du sol. Pour chaque modalité (prairie et culture), 3 répliqués de 10g de sol humide tamisé sont pesés dans des boîtes en aluminium et placés dans une étuve à 105°C. Après 24h, les boîtes sont fermées, afin que le sol reste sec le temps de revenir à température ambiante, et de nouveau pesées. Le taux d'humidité est déterminé par les formules suivantes :

*Masse d'eau dans 10g de sol humide (Meau) = Poids sol humide – Poids sol sec*

$$\text{Humidité du sol (\%)} = \frac{Meau}{\text{Poids sol sec}} \times 100$$

La capacité maximale de rétention d'eau du sol (ou CAPAC) est également quantifiée pour chaque type de sol. 30g de sol humide est disposé dans un moule sur un



tamis de 200µm. Goutte à goutte, de l'eau est ajoutée de façon homogène à la surface du sol jusqu'à ce qu'elle s'écoule à travers le tamis. La CAPAC se détermine comme suit :

$$CAPAC\ 30g\ sol\ humide = \frac{Volume\ eau\ ajouté}{30} + \frac{Meau}{10}$$

$$CAPAC\ 30g\ sol\ sec = \frac{CAPAC\ 30g\ sol\ humide}{1 - \frac{Meau}{10}} \times 30$$

L'humidité des sols est contrôlée et fixée à 60% de la CAPAC au sein des microcosmes, en ajoutant de l'eau stérile, afin que les communautés microbiennes ne soient pas en anaérobiose.

$$Volume\ d'eau\ à\ ajouter = CAPAC\ 30g\ sol\ sec \times 60\% - (30g\ sol\ équivalent\ sec - 30)$$

Suite à cela, les fioles plasma sont fermées à l'aide d'un septum et d'une bague métallique avant d'être placées durant une semaine dans un incubateur à 20°C (température moyenne du site à l'automne) et à l'obscurité pour éviter la croissance d'organismes photosynthétiques. Cette étape a pour but de stabiliser les communautés microbiennes en termes de densité et de structure. A la fin de la pré-incubation, la moitié des microcosmes sont amendés avec des résidus de blé finement broyés et marqués au <sup>13</sup>C (marquage à 7,01%) à hauteur de 5mg/g de sol sec, tandis que l'autre moitié n'est pas amendée (microcosmes contrôles). A l'aide d'une spatule, les résidus sont mélangés dans le sol de manière homogène. Les microcosmes contrôles sont également mélangés afin d'éviter tout biais expérimental. Les sols sont ensuite incubés à l'obscurité pendant 51 jours à 20°C (Annexe 1). Au total, l'expérimentation compte 78 microcosmes correspondant à 2 types de sol x 2 traitements (amendé/contrôle) x 7 temps de prélèvement x 3 réplicats. A chaque temps de prélèvement, les microcosmes sont aérés pour apporter de l'oxygène aux communautés microbiennes.

### 3. Prélèvements et mesures de gaz

Le suivi de la minéralisation de la MO *via* la respiration du sol s'effectue aux temps T0, T3, T7, T14, T21 et T28 au cours de l'incubation (Annexe 1). Au préalable, il est nécessaire de faire le vide dans des fioles pour y injecter le gaz prélevé dans les microcosmes. Le vide des fioles se fait à l'aide d'une pompe à vide. Quant aux prélèvements, ils se feront toujours dans les mêmes microcosmes pour chaque temps (pour cette expérimentation, dans les 12 microcosmes du T51). 10mL d'air est prélevé et



transféré dans des fioles vides à l'aide d'une aiguille et d'une seringue. Les concentrations mesurées correspondent aux gaz accumulés entre deux temps de prélèvement.

La concentration en CO<sub>2</sub> est déterminée avec le chromatographe en phase gazeuse Agilent HP 7890A couplé à un échantillonneur automatique (Agilent G1888), disponible au sein de la plateforme GISMO. La micro-seringue de l'échantillonneur va piquer au travers du septum de la fiole pour y injecter un gaz vecteur (Hélium). La surpression créée va entraîner le gaz directement dans le chromatographe où une colonne et un four vont permettre de séparer les molécules gazeuses. Les molécules sortent alors de la colonne avec différents temps de rétention et passent par un détecteur à conductivité thermique qui transforme l'information en un signal électrique permettant de quantifier la concentration en molécules de CO<sub>2</sub>.

La concentration en CO<sub>2</sub> isotopique est quantifiée par un spectromètre de masse à ratio isotopique (Isoprime, Elementar) composé d'un système de chromatographie gazeuse associée à une interface TraceGas (Micromass), disponible au sein de la plateforme GISMO. Cette interface est utilisée pour aspirer le gaz et séparer les molécules de CO<sub>2</sub>. Ensuite le spectromètre de masse va détecter l'abondance des isotopes : en passant par la source le CO<sub>2</sub> est ionisé ; l'ion CO<sub>2</sub><sup>+</sup> est accéléré à travers un tube et l'analyseur va dévier les ions selon leur masse et leur charge avant que le détecteur mesure l'abondance des molécules isotopiques.

Le dosage des gaz permet l'observation de la respiration basale du sol dans les microcosmes contrôles (Rc). Grâce au marquage des résidus de blé, il est possible de distinguer la respiration liée à l'apport de MO (Rr) et la respiration du sol (Rs) et ainsi en déduire la respiration totale (Rt).

$$R_s + R_r = R_t$$

Le PE est enfin déduit par l'équation suivante :

$$PE = R_t - R_r - R_c$$

#### **4. Extraction d'ADN**

En parallèle des prélèvements de gaz, les sols contenus dans les microcosmes sont lyophilisés aux temps T0, T3, T14, T21, T28 et T51 puis stockés à -40°C en attendant l'extraction de leurs ADN (Annexe 1). L'ADN est extrait à partir de 1g de sol équivalent sec

suivant une procédure standardisée par la plateforme GenoSol. Dans un Falcon de 15mL sont pesés 2g de billes de 0,1mm en silice, 2,5g de billes en céramique de 1,4mm et 4 billes en verre de 4mm de diamètre. 1g de sol équivalent sec est ajouté dans les tubes préparés. A ce mélange est apporté 5mL d'un tampon de lyse filtré à 0,2µm contenant 100mM de Tris-HCl (pH8), 100mM d'EDTA (pH8), 100mM de NaCl et 2% de SDS permettant une lyse chimique membranaire. Les échantillons sont agités dans l'agitateur FastPrep-24 à 4m/s pendant 90 secondes afin d'exercer en plus une lyse mécanique. Les tubes sont mélangés avec un vortex manuel et mis à incuber au bain-marie 30min à 70°C avec deux nouvelles agitations par vortex au bout de 15 et 30min. Une centrifugation à 7000g pendant 5min à 20°C va permettre de récupérer dans le surnageant le lysat conservé à -20°C. Le lysat va subir une déprotéinisation : 100µL d'acétate de potassium à 3M (pH5,5) sont ajoutés à 1mL de lysat. Les tubes sont homogénéisés par retournement et incubés dans la glace pendant 10min. Une nouvelle centrifugation (14000g – 5min – 4°C) permet de récupérer un surnageant exempt de protéines dans un tube de 2mL. L'étape suivante consiste à précipiter l'ADN en ajoutant 900µL d'isopropanol à -20°C et en agitant par retournement les tubes. Ces derniers sont placés à -20°C pendant 30min minimum et centrifugés à 13000rpm 30min à 4°C. Le surnageant est éliminé et le culot lavé par addition de 400µL d'éthanol 70° à -20°C. Les tubes sont centrifugés (13000rpm – 5min – 4°C) et l'alcool est éliminé à la pipette puis en plaçant les tubes à l'étuve à 60°C jusqu'à ce que les culots soient secs. Les culots d'ADN sont ensuite resuspendus dans 200µL d'H<sub>2</sub>O-UP et placés à 4°C pendant une nuit, la solution obtenue est appelé ADN brut.

### ***5. Détermination de la biomasse microbienne***

Préparation d'un gel d'agarose à 1%. L'agarose est dissout dans du TBE 1X par chauffage au four micro-onde et mise à polymériser dans un plateau avec un peigne adapté. Une fois le gel pris en masse, le plateau contenant le gel est placé dans une cuve contenant du TBE 1X et le peigne ôté.

Gamme d'ADN de thymus de veau. La gamme est réalisée par des dilutions en cascades dans du TE à partir d'une solution mère à 1mg/mL d'ADN de thymus de veau (Biorad). La gamme comportera 5 points : 250 ; 187,5 ; 140,6 ; 79,1 ; 25 ng/10µL.

Electrophorèse. Dans les puits du gel sont chargés : 5µL du marqueur de taille 1kb (Invitrogen) ; 10µL des 5 points de gamme d'ADN de thymus de veau ; et 10µL des échantillons d'ADN bruts dilués au 1/5 dans de l'eau UP. Avant d'être déposés dans le gel

les ADN sont mélangés à 5 $\mu$ L de bleu de charge. Les ADN sont mis à migrer 2h à 70mA, puis le gel est immergé dans une solution de BET pendant 20min et rincé dans de l'eau 15min. Le BET est un intercalant de l'ADN permettant sa visualisation aux UV. Le gel est numérisé grâce au logiciel UVI-1D (UVITEC) et la biomasse microbienne moléculaire quantifiée.

Quantification de la biomasse moléculaire microbienne. Le logiciel ImageQuant TL permet d'analyser l'intensité de chaque profil de migration. Une aire rectangulaire fixe basée sur la migration du marqueur de taille sera utilisé sur toutes les bandes du gel (gamme et échantillons) afin d'obtenir des résultats comparables entre les échantillons d'un même gel mais également entre plusieurs gels. Le logiciel peut alors déterminer la fluorescence de chaque rectangle correspondant à la quantité d'ADN déposé. La quantité d'ADN quantifié est calculée par comparaison de la fluorescence des échantillons avec la fluorescence de la gamme dont la concentration en ADN est connue.

## *6. Purification d'ADN et dosage par fluorescence*

Après quantification, l'ADN est purifié avec le kit Nucleopin Soil (Macherey-Nagel) en suivant un protocole standardisé par la plateforme GenoSol. En comparaison au protocole du kit : les 3 premières étapes sont remplacées par l'ajout de 500 $\mu$ L d'eau UP à 100 $\mu$ L d'ADN brut suivi d'une homogénéisation par aspiration-refoulement ; le tampon SB est homogénéisé par aspiration-refoulement plutôt que par un vortex manuel ; le tampon de lavage est apporté à hauteur de 700 $\mu$ L et la colonne n'est pas vortexé à cette étape ; enfin l'élution de l'ADN est réalisée 2 fois dans 30 $\mu$ L de tampon SE afin d'obtenir un meilleur rendement. L'ADN purifié est dilué au 1/5 dans de l'eau UP avec une prise d'essai de 5 $\mu$ L pour le dosage.

Le dosage fluorométrique est réalisé avec le kit QuantiFluor (Promega). En suivant une trame, 50 $\mu$ L d'une gamme d'ADN de phage lambda de concentrations 2 ; 1 ; 0,5 ; 0,25 ; 1,125 et 0,015625 ng/ $\mu$ L sont déposés en triplicat sur une plaque de 96 puits de qualité optique (Applied Biosystems). A la suite, un témoin négatif composé uniquement de 50 $\mu$ L de TE1X et un étalon d'ADN de thymus de veau à 2ng/ $\mu$ L (fourni dans le kit Fluorescent DNA Quantification – Biorad), dilué au 1/5 dans du TE1X avec 5 $\mu$ L comme prise d'essai sont également déposés en triplicat. Les échantillons d'ADN sont enfin dilués de la même manière et 50 $\mu$ L sont ajoutés dans les puits restant de la plaque. Sous hotte chimique, une préparation de 25 $\mu$ L du fluorochrome QuantiFluor dans 5mL de TE1X est préparée et 50 $\mu$ L de cette solution sont répartis dans chacun des puits. La plaque est sellée par un

film optique et centrifugée 30s à 1000g. La quantification se fait par le TECAN InfiniteF200PRO et les résultats sont récupérés sur le logiciel Magellan (version 7.1).

## 7. Caractérisation de la densité microbienne

L'abondance des communautés bactériennes et fongiques est déterminée par PCR en temps réel (ou PCR quantitative : qPCR). En effet, la qPCR permet de suivre le nombre de copies d'ADN cible (notamment l'ADNr 16S chez les bactéries et 18S chez les champignons) présents au cours de l'amplification en utilisant un couple d'amorces universelles spécifiques. La détection repose sur une mesure en continue d'un signal fluorescent induit par le SYBR-Green, intercalent de l'ADN sous forme double brin.

Dans une plaque de 96 puits (Eurogentec), une gamme de référence préalablement préparée est déposée. Cette gamme est composée de 6 points de gamme allant de  $0,5 \cdot 10^8$  à  $0,5 \cdot 10^3$  copies/ $\mu\text{L}$  pour la qPCR 16S et de  $0,5 \cdot 10^7$  à  $0,5 \cdot 10^2$  copies/ $\mu\text{L}$  pour la qPCR 18S. Un étalon interne est également déposé pour rendre compte de la qualité de la préparation et le mélange réactionnel décrit en Figure 6 est disposé dans les puits restant (Annexe 2). Pour pallier à l'évaporation et la contamination au cours de la réaction d'amplification, la plaque est recouverte d'un film optique puis centrifugée 30s à 1000g.

qPCR 16S		qPCR 18S	
Mélange réactionnel (20 $\mu\text{L}$ )			
2 $\mu\text{L}$ ADN purifié à 1ng/ $\mu\text{L}$		2 $\mu\text{L}$ ADN purifié à 1ng/ $\mu\text{L}$	
1X Master Mix SybrGreen Takyon (Eurogentec)		1X Master Mix SybrGreen Takyon (Eurogentec)	
↳ Taq polymérase + SybrGreen + dNTP + MgCl <sub>2</sub>		↳ Taq polymérase + SybrGreen + dNTP + MgCl <sub>2</sub>	
1 $\mu\text{M}$ amorce 515R (Eurogentec)		1,75mM MgCl <sub>2</sub> (Eurogentec)	
1 $\mu\text{M}$ amorce 341F (Eurogentec)		1,25 $\mu\text{M}$ amorce FR1 (Eurogentec)	
500ng T4 apigen (MP Bio)		1,25 $\mu\text{M}$ amorce FF390 (Eurogentec)	
Qsp 20 $\mu\text{L}$ H <sub>2</sub> O (5PRIME)		500ng T4 apigen (MP Bio)	
		Qsp 20 $\mu\text{L}$ H <sub>2</sub> O (5PRIME)	
Programme thermocycleur			
Dénaturation initiale	15min – 95°C	Dénaturation initiale	10min – 95°C
Dénaturation	15s – 95°C	Dénaturation	15s – 95°C
Hybridation des amorces	30s – 60°C	Hybridation des amorces	30s – 50°C
Elongation	30s – 72°C	Elongation	1min – 72°C
Acquisition des données	20s – 80°C	Acquisition des données	20s – 80°C
} 35 cycles		}	

**Figure 6. Mélanges réactionnels et programmes du thermocycleur pour la caractérisation de la densité bactérienne (qPCR 16S) et fongique (qPCR 18S).**

La qPCR est effectuée dans le thermocycleur StepOne Plus de la marque Applied Biosystems en suivant les programmes exposés en Figure 6. Le logiciel StepOne Software (version 2.2) récupère les résultats et les présentent sous forme graphique. L'amplification des séquences d'ADN observée à travers l'émission du fluorochrome suit une sigmoïde avec une phase exponentielle dépendante du nombre de copies initialement présent dans l'échantillon d'ADN et une phase plateau où l'amplification ralentie suite à l'épuisement des différents réactifs du mélange réactionnel. Le logiciel définit un seuil de détection (ou seuil threshold ou Ct) correspondant au nombre de cycles minimaux au-delà duquel la fluorescence dépasse le bruit de fond. Ce Ct permet le calcul du nombre de copies.

## **8. Analyses statistiques**

Des tests statistiques ont été réalisés sur le logiciel RStudio (version 3.5.3) afin de s'assurer de la significativité des résultats obtenus. Tout d'abord un test Shapiro-Wilk est utilisé dans le but de vérifier si les données suivent une loi normale avec une marge d'erreur de 5%. L'hypothèse nulle de ce test est que l'échantillon suit une loi normale. L'hypothèse est validée avec une  $p$ -value  $> 0,05$ , ce qui signifie qu'une analyse paramétrique peut être utilisée. Toutes les données obtenues (biomasse, densité et respiration) s'avèrent suivre une loi normale.

Le test de comparaison de moyenne utilisé pour une analyse paramétrique est l'ANOVA. Elle permet de comparer l'effet des 3 modalités : le type de sol (prairie/culture), l'amendement et le temps, sur les résultats avec une marge de 5%, mais aussi l'interdépendance des modalités entre elles. L'ANOVA est associée au test de Tukey qui permet de déterminer les différences significatives en comparant les moyennes des différents groupes deux à deux.

### III. Résultats

#### 1. *Biomasse microbienne*

La biomasse moléculaire microbienne est estimée durant toute la cinétique d'incubation des microcosmes contrôles et amendés pour les sols issus de prairie et de culture (voir Figure 7).

Pour les microcosmes contrôles (Figure 7A et 7B), la biomasse microbienne n'évolue pas au cours du temps quel que soit le type de sol et se stabilise aux alentours de  $24\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de sol sec. Cependant, la biomasse moléculaire microbienne des microcosmes amendés tend à augmenter avec la durée d'incubation (Figure 7C et 7D). Ainsi, cette augmentation est significative ( $P < 0,05$ ) pour le sol de type prairie (Figure 7D) où la biomasse microbienne est quasiment doublée et atteint  $44\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de sol sec en 51 jours d'incubation.

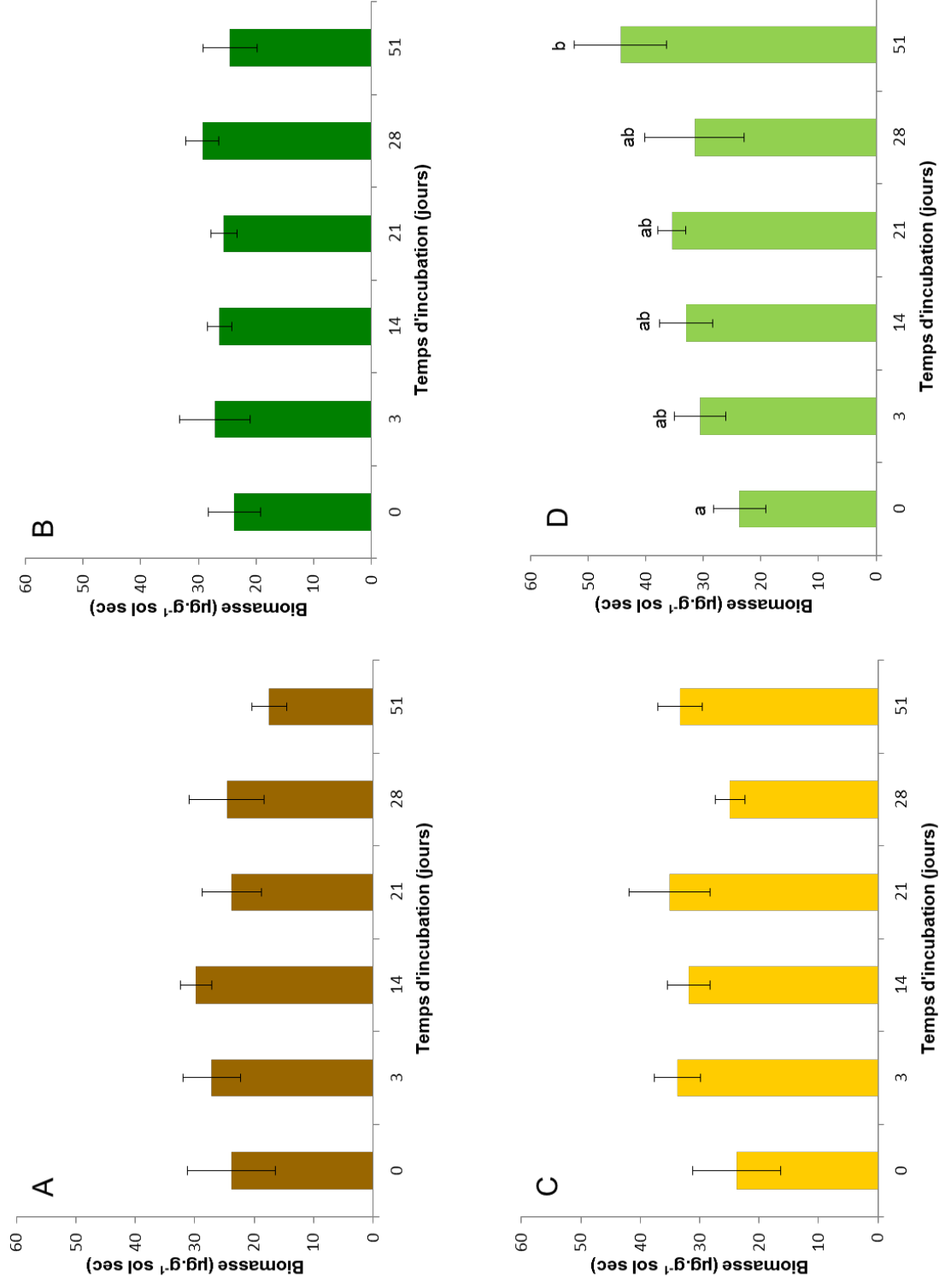
L'incorporation de résidus de blé tend à augmenter la biomasse microbienne dans les microcosmes amendés par rapport aux microcosmes contrôles comme le montre la comparaison des graphiques C et D aux graphiques respectifs A et B de la Figure 7, cependant cette tendance n'est pas significative ( $P < 0,05$ ).

Enfin, les sols de prairie et de culture ne présentent pas de différences significatives en termes de biomasse microbienne ( $P < 0,05$ ), tant pour les microcosmes contrôles que pour les microcosmes amendés.

#### 2. *Densité microbienne*

La densité des communautés bactériennes et fongiques a été évaluée par quantification du nombre de copies des gènes codant pour les ARNr 16S et 18S. Pour évaluer la variation de la communauté globale au cours du temps, le ratio d'abondance des champignons par rapport aux bactéries (ratio F/B) a été déterminé (Figure 8).

Tout comme la biomasse moléculaire microbienne, le ratio F/B dans les microcosmes contrôles (Figure 8A et 8B) reste stable pendant toute la durée d'incubation à une valeur moyenne de 3 pour les sols de culture et 4 pour les sols de prairie. Il est intéressant de noter que cette stabilité est modifiée lorsque des résidus de blé sont apportés, comme observé dans les microcosmes amendés (Figures 8C et 8D). Ainsi, un apport de MO augmente de manière significative ( $P < 0,05$ ) le ratio des microcosmes amendés d'un facteur multiplicatif de 4 (en culture) à 6 (en prairie). Plus précisément, l'amendement de



**Figure 7. Biomasse moléculaire microbienne ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\text{ sol sec}$ ) du sol de culture en microcosmes contrôlés (A) et amendés (C) et du sol de prairie dans des conditions contrôlés (B) et amendés (D) au cours de l'incubation. Les lettres indiquent une biomasse significativement différente au cours du temps (ANOVA,  $P < 0,05$ ). Les écart-types représentent la variation des réplicats biologiques ( $n = 3$ ).**

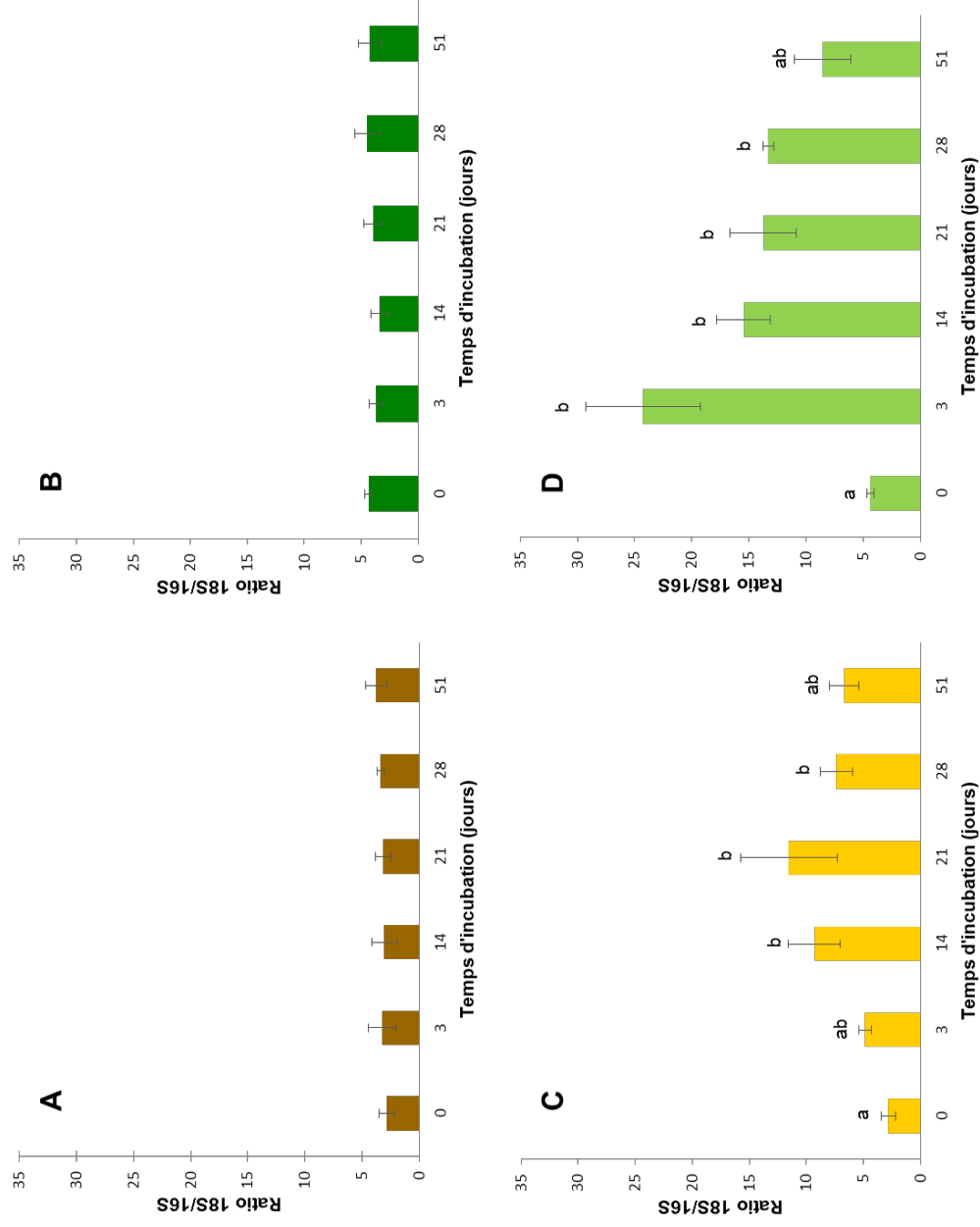
MO pour le sol de prairie impacte significativement le ratio du 3<sup>ème</sup> jour au 28<sup>ème</sup> jour inclus, tandis qu'en culture, l'ajout de MO a une influence significative seulement à partir du 14<sup>ème</sup> jour, jusqu'au 21<sup>ème</sup> jour.

De plus, l'évolution du ratio F/B au cours de la cinétique dans les microcosmes amendés est différente en fonction des pratiques agricoles des sols. Pour le sol de culture, le ratio F/B augmente progressivement jusqu'à atteindre une valeur maximale de 11 à 21 jours d'incubation, pour diminuer et tendre à revenir à son état initial au bout de 51 jours (Figure 8C). Pour le sol de prairie (Figure 8D), le ratio F/B montre une réponse plus rapide et plus forte à l'ajout de résidus de blé puisqu'un ratio de 24 est observé dès 3 jours d'incubation. Puis, ce ratio F/B diminue progressivement jusqu'à la fin de l'incubation pour se rapprocher d'une valeur proche de la valeur avant ajout de l'amendement.

L'analyse des abondances bactérienne et fongique séparément permet de mieux déterminer les différences de cinétiques entre les communautés microbiennes des sols de prairie et de culture, après ajout de MO (Figure 9). Comme pour le ratio F/B, le nombre de copies des gènes d'ADNr 16S et d'ADNr 18S des sols de prairie et de culture en condition contrôle est stable dans le temps (données non présentées).

A l'inverse, après amendement organique, la variation du ratio F/B au cours du temps traduit une modification des communautés microbiennes. Ainsi, dans le sol de culture amendé (Figure 9A), une forte augmentation du nombre de copies des gènes d'ADNr 16S a lieu 3 jours après amendement, puis diminue à une valeur qui n'est pas significativement différente de la valeur initiale ( $P < 0,05$ ). Le nombre de copies de gènes d'ADNr 18S augmente plus lentement, pour atteindre une valeur maximale à 21 jours d'incubation. Cette abondance fongique reste stable jusqu'à la fin de l'incubation ( $P < 0,05$ ). Concernant le sol de prairie, le nombre de copies de gènes d'ADNr 16S augmente, mais de façon non significative ( $P < 0,05$ ) après un ajout de MO au 3<sup>ème</sup> jour d'incubation puis reste stable dans le temps. Par contre, le nombre de copies de gènes d'ADNr 18S augmente fortement (de  $9,8 \cdot 10^7 \pm 1,8 \cdot 10^7$  à  $9,0 \cdot 10^8 \pm 5,1 \cdot 10^8$  copies par gramme de sol sec) 3 jours après l'amendement, puis diminue dès la mesure suivante, à 14 jours. Les valeurs mesurées restent supérieures à la valeur initiale, durant toute la cinétique ( $P < 0,05$ ).





**Figure 8. Evolution du ratio F/B (abondance des communautés fongiques divisée par l'abondance des communautés bactériennes) au cours de l'incubation. A : microcosmes contrôlés d'un sol de culture. B : microcosmes contrôlés d'un sol de prairie. C : microcosmes amendés d'un sol de culture. D : microcosmes amendés d'un sol de prairie. Les lettres indiquent un ratio significativement différent entre chaque temps (ANOVA,  $P < 0,05$ ). Les écart-types représentent la variation des réplicats biologiques ( $n = 3$ ).**

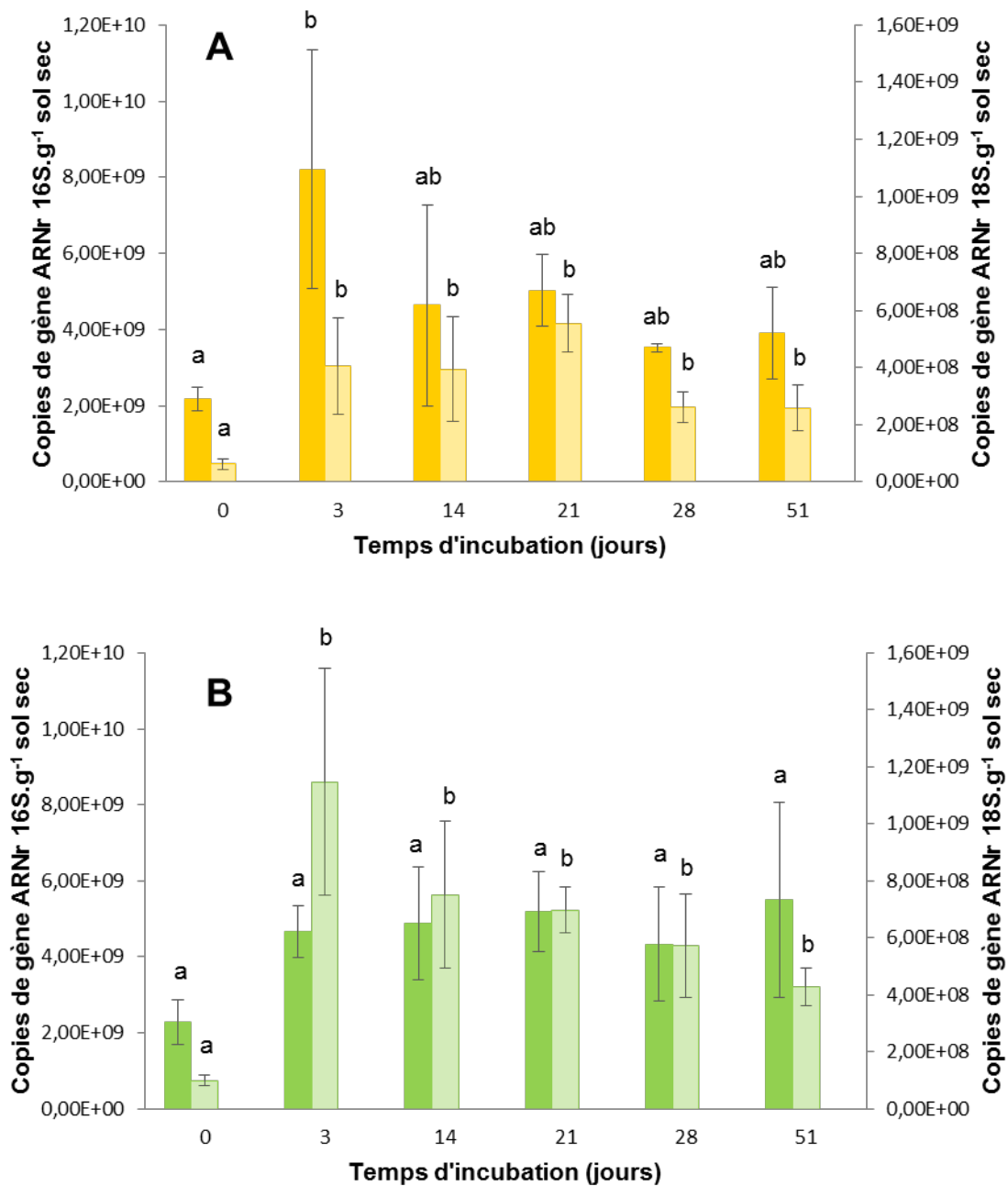
### 3. *Respiration du sol en réponse à l'apport de résidus de blé*

L'analyse fonctionnelle de la respiration du sol traduit le potentiel d'activité des communautés microbiennes durant la minéralisation de la MO fraîche apportée, et celle présente initialement dans les sols. Le dosage des gaz émis par les microcosmes permet de suivre 4 activités différentes : la respiration basale dans les microcosmes contrôles ; la respiration totale dans les microcosmes amendés ; la respiration liée à la minéralisation des résidus de blé apportés ; et le Priming Effect (PE) (voir Figure 10).

Dans les microcosmes contrôles, la respiration basale cumulée augmente significativement au cours du temps ( $P < 0,05$ ) pour les 2 modes d'usage des sols différents (Figure 10A et 10B). A la fin de l'incubation, 155% de  $\text{CO}_2$  supplémentaire est émis par le sol de prairie par rapport au sol de culture ( $179 \pm 11 \mu\text{g CO}_2\cdot\text{g}^{-1}$  de sol sec contre  $70 \pm 1 \mu\text{g CO}_2\cdot\text{g}^{-1}$  de sol sec, respectivement) ( $P < 0,05$ ).

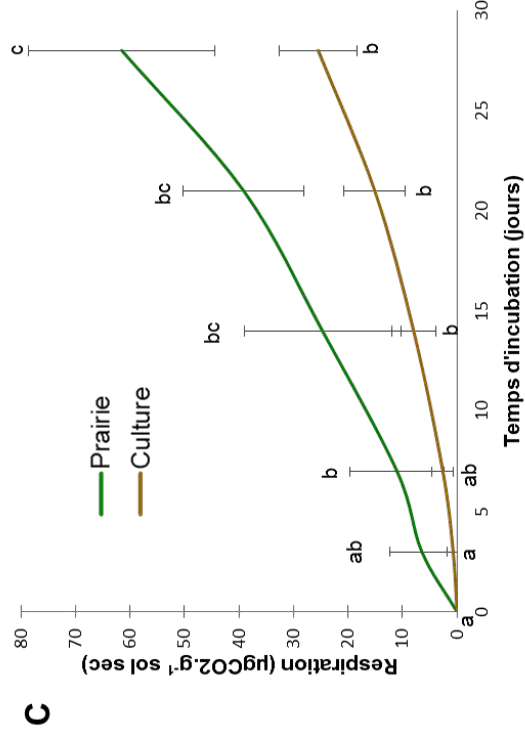
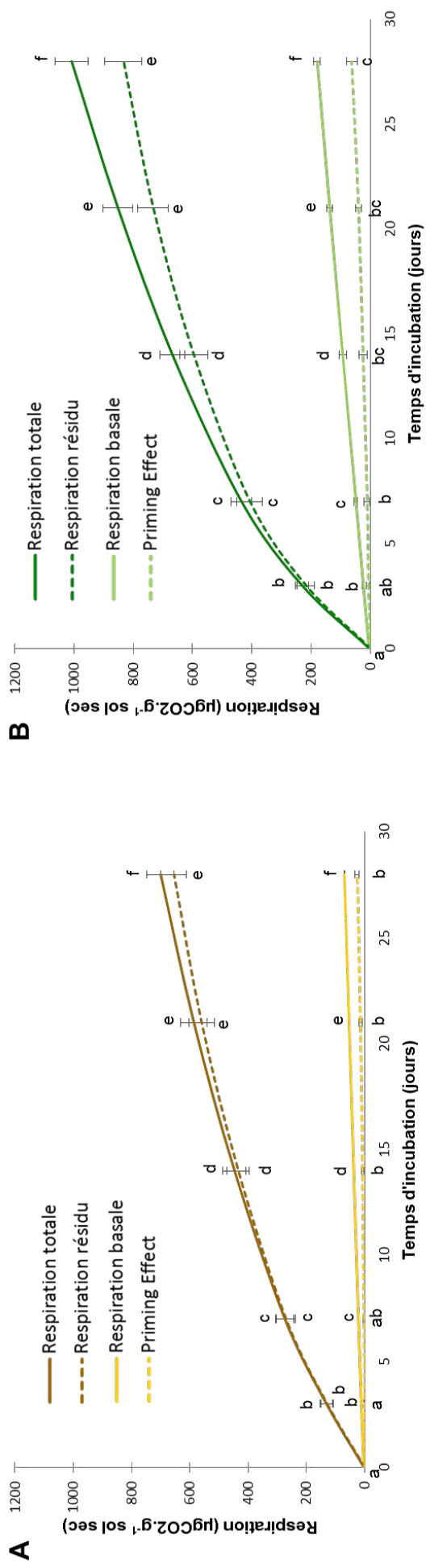
L'incorporation de résidus de blé dans les sols de prairie et de culture augmente significativement la quantité de  $\text{CO}_2$  émis (appelée respiration totale) durant le temps d'incubation ( $P < 0,05$ ) (Figure 10A et 10B). Cette augmentation est très forte la première semaine suivant l'ajout de MO puisqu'en culture 39% du  $\text{CO}_2$  total émis en 28 jours est relargué en 7 jours ( $274 \pm 31 / 700 \pm 47 \mu\text{g CO}_2\cdot\text{g}^{-1}$  de sol sec) et en prairie il s'agit de 43% ( $435 \pm 35 / 1009 \pm 55 \mu\text{g CO}_2\cdot\text{g}^{-1}$  de sol sec). A la fin de l'incubation, le sol de culture a émis  $700 \pm 47 \mu\text{g CO}_2\cdot\text{g}^{-1}$  de sol sec alors que le sol de prairie, lui, a relargué  $1009 \pm 55 \mu\text{g CO}_2\cdot\text{g}^{-1}$  de sol sec, soit 44% de  $\text{CO}_2$  en plus ( $P < 0,05$ ).

La majeure partie de la respiration totale correspond au  $^{13}\text{CO}_2$  émis dans l'atmosphère suite à la minéralisation du blé marqué apporté (appelée Respiration résidu, Figures 10A et 10B). Tout comme la respiration totale, l'activité des microorganismes est fortement stimulée lors de la première semaine d'incubation avec une augmentation significative au cours du temps ( $P < 0,05$ ). Cependant, au bout de 21 jours la respiration liée à l'apport de MO semble ralentir et atteindre un plateau compte tenue de l'épuisement de résidus de blé disponible.



**Figure 9.** Evolution de l'abondance des communautés bactériennes (échelle de gauche, couleurs foncées) et des communautés fongiques (échelle de droite, couleurs claires) pour un sol de culture (A) et de prairie (B) au cours de l'incubation. Les lettres indiquent des résultats significativement différents au cours du temps (ANOVA,  $P < 0,05$ ). Les écart-types représentent la variation des réplicats biologiques ( $n = 3$ ).

Une stimulation de l'émission de CO<sub>2</sub> est notée suivant l'incorporation de résidus de blé marqué. Cette stimulation de la minéralisation de la MO native du sol est usuellement appelée PE. Ce PE est observé dans les microcosmes amendés et contribue à une augmentation significative ( $P < 0,05$ ) et continue du CO<sub>2</sub> émis dans l'atmosphère (Figure 10C). La sur-minéralisation de la MO autochtone est plus forte en prairie qu'en culture (non significatif,  $P > 0,05$ ) et en fin d'incubation, le PE représente 3% de la respiration totale pour un sol de culture ( $25 \pm 7 / 700 \pm 47 \mu\text{g CO}_2\cdot\text{g}^{-1}$  de sol sec) et 6% pour un sol de prairie ( $61 \pm 17 / 1009 \pm 55 \mu\text{g CO}_2\cdot\text{g}^{-1}$  de sol sec).



**Figure 10. Respiration microbienne du sol ( $\mu\text{g CO}_2\text{.g}^{-1}\text{ sol sec}$ ) cumulée sur 28 jours. A : Respiration des microcosmes de culture. B : Respiration des microcosmes de prairie. C : Respiration liée au Priming Effect. Les lettres indiquent des valeurs significativement différentes au cours du temps (ANOVA,  $P < 0,05$ ). Les écart-types représentent la variation des réplicats biologiques ( $n = 3$ ).**

## IV. Discussion

### 1. *Impact des pratiques agricoles sur les communautés microbiennes*

#### a. **Evolution de la biomasse microbienne en réponse aux pratiques agricoles**

L'analyse de l'évolution de la biomasse moléculaire microbienne est un bon indicateur du fonctionnement biologique des sols. Ce bioindicateur est en effet sensible aux perturbations, et notamment aux changements de gestion des sols (Dequiedt *et al.*, 2011).

Les résultats de l'estimation de l'ADN total présent dans les sols des microcosmes contrôlés indiquent que la biomasse est stable pendant toute la durée de l'incubation (Figure 7A et 7B). En accord avec Maron *et al.* (2018), ce résultat témoigne que les communautés microbiennes se développent jusqu'à atteindre la capacité porteuse du sol, c'est-à-dire la capacité maximale du sol à accueillir des communautés microbiennes en terme de densité. Cette stabilité a pu être obtenue suite à la semaine de pré-incubation où l'absence de variations des conditions microclimatiques a permis aux communautés microbiennes présentes dans les sols d'atteindre un équilibre et de se stabiliser.

Suite à la période de pré-incubation, une partie des microcosmes sont amendés avec des résidus de blé marqués au  $^{13}\text{C}$ . Le suivi au cours du temps de la biomasse moléculaire microbienne des microcosmes amendés a pour but, dans ce cas, de visualiser l'effet d'un apport de MO sur l'évolution des communautés microbiennes sur une cinétique de 51 jours sur 2 sols soumis à des pratiques agricoles différentes. Les résultats montrent une faible augmentation de la biomasse significative seulement pour les sols de prairie (Figure 7C et 7D). En étudiant les effets de la fertilisation sur la structure des communautés microbiennes et la minéralisation du C organique, Li *et al.*, (2018) démontrent que la biomasse est stimulée suite à un amendement. Les résidus de blé apportés vont fournir de l'énergie aux communautés microbiennes qui pourront dès lors accélérer leur métabolisme et se multiplier. La capacité porteuse du sol sera augmentée suggérant que la fraction labile de MO est limitante pour le développement des communautés microbiennes. Une augmentation plus franche de la biomasse aurait pu être attendue suite à l'amendement, cependant cette expérience se heurte au problème de la variabilité biologique et de l'hétérogénéité spatiale présente au sein du sol, notamment dans les micro-agrégats.

La comparaison des biomasses microbiennes entre le sol de prairie et de culture ne présente pas de différences significatives pour les traitements contrôlés et amendés. A T0, une biomasse de  $24,4 \pm 5,8 \mu\text{g.g}^{-1}$  de sol sec dans les microcosmes de sols de culture et

26,1 ± 3,9 µg.g<sup>-1</sup> de sol sec dans ceux de prairie est observée. Ce résultat est en parti cohérent avec l'étude menée par Dequiedt et collaborateurs en 2011 basée sur le même protocole de détermination de la biomasse. Celle-ci montre qu'à l'échelle de la France, l'abondance microbienne est comprise dans une fourchette de 0,1 à 41,8 µg.g<sup>-1</sup> de sol sec, bien que les valeurs pour des sols de cultures et de prairies varient plutôt autour de 8,7 ± 3,9 µgADN.g<sup>-1</sup> de sol et 11,6 ± 5,8 µgADN.g<sup>-1</sup> de sol respectivement. Plusieurs facteurs peuvent expliquer ces variations de biomasse microbienne entre deux études, notamment les conditions pédoclimatiques très variables à l'échelle de la France, l'analyse en microcosmes où les conditions sont contrôlées, mais aussi les différentes pratiques agricoles employées sur les sols de prairies ou de cultures. Il ressort également de ces résultats une biomasse microbienne plus faible (non significatif) en culture qu'en prairie ce qui est cohérent avec l'observation de Van Leeuwen *et al.*, (2017). Cette faible différence observée serait principalement expliquée par les pratiques agricoles, bien qu'un impact minoritaire des caractéristiques physico-chimiques est possible, influencé par l'historique du mode d'usage.

#### **b. Evolution des communautés fongiques et bactériennes en réponse aux pratiques agricoles**

En complément de la biomasse microbienne, la densité des communautés microbiennes est quantifiée par qPCR. Les gènes ciblés sont ceux de l'ADNr 16S et 18S afin d'identifier respectivement les communautés fongiques et bactériennes. Ces résultats auront pour but d'approfondir l'étude de l'impact des pratiques agricoles sur les communautés fongiques et bactériennes séparément mais également de vérifier le rapport F/B, un indicateur très utilisé en agriculture pour s'assurer de la qualité des sols.

Dans des conditions contrôles, le rapport F/B reste stable durant toute l'incubation quel que soit le sol étudié (Figure 8A et 8B). La stabilité de la biomasse observée dans ces mêmes conditions traduit une stabilité des communautés fongiques et bactériennes. Un coefficient multiplicateur de 3 est obtenu pour le sol de culture et de 4 pour le sol de prairie. Or, le rapport F/B est considéré comme « bon » lorsqu'il équivaut à 5. Bien que les différences ne soient pas significatives entre les 2 types de sol, les communautés microbiennes du sol de culture semblent être légèrement plus déséquilibrées que pour le sol de prairie.

L'impact des pratiques agricoles sur la densité des communautés microbiennes est plus important lorsque le sol subit un amendement organique (Figure 8C et 8D). Le ratio

F/B augmente jusqu'à atteindre un maximum de 11 dans le sol de culture et de 24 dans un sol de prairie puis tend à revenir vers l'état initial. Il est intéressant de noter que les communautés microbiennes des sols de prairie et de culture réagissent différemment à un apport de MO. La différence de ratio observée entre les 2 types de sol indique que les communautés microbiennes entrant en jeu dans la dégradation des résidus de blé sont différentes entre un sol de culture et un sol de prairie. En culture, les bactéries se développent rapidement après amendement, puis se stabilisent à des valeurs significativement proches de la valeur initiale, alors que les communautés fongiques se multiplient jusqu'à atteindre un maximum au bout de 21 jours d'incubation, correspondant au temps où le rapport F/B est le plus fort (Figure 8A et 9A). En revanche, en prairie, les communautés bactériennes se multiplient après l'inoculation de blé puis restent stables sur toute la durée de l'incubation, tandis que les champignons se développent très fortement dès 3 jours et tendent à revenir à l'état initial lentement (Figure 8B et 9B).

Cette cinétique de la proportion des communautés fongiques par rapport aux communautés bactériennes témoigne d'une succession des populations microbiennes au cours du temps. La MO apportée va être dégradée par différents microorganismes selon leurs capacités cataboliques. Ainsi certaines communautés microbiennes vont dégrader dans un premier temps la fraction labile du blé, puis les produits de dégradations restant, généralement plus récalcitrants, seront les sources d'énergie pour d'autres espèces (Baumann *et al.*, 2013).

La composition microbienne reste tout de même dominée par les bactéries qui possèdent un temps de multiplication plus court que les champignons et peuvent donc réagir rapidement à des changements environnementaux. Cependant les communautés fongiques sont également sensibles à un amendement et jouent un rôle essentiel dans la dégradation de la MO et ainsi dans le cycle du C dans le sol (Li *et al.*, 2018).

En accord avec les travaux de Szosboslay *et al.* (2017) et de Li *et al.* (2018), le développement plus lent et plus faible des communautés fongiques en culture observée peut s'expliquer par le fait que certaines pratiques agricoles, notamment le labour, défavorisent la présence de champignons par la destruction des hyphes lors de ce traitement physique. L'observation d'une densité microbienne plus élevée en prairie peut également être attribuée à la présence d'un couvert végétal pérenne plus diversifié, impliquant une plus forte densité de racines et ainsi plus de nutriments disponibles par rapport à un sol nu.



Ainsi, l'impact des pratiques agricoles a été mis en évidence sur l'abondance des communautés microbiennes et plus particulièrement sur le comportement des communautés fongiques et bactériennes lors d'un apport de MO. Ces résultats obtenus après amendement par qPCR indiquent une adaptation physiologique et une sélection écologique selon les pratiques agricoles (Jangid *et al.*, 2008) où les communautés fongiques sont les plus impactées.

## **2. Impact des pratiques agricoles sur l'activité microbienne dans le sol**

L'activité microbienne dans le sol a été déterminée par le suivi de la minéralisation de la MO (Figure 10). La respiration basale, mesurée dans les microcosmes contrôles, augmente de manière linéaire correspondant à une activité basale en raison de la présence des microorganismes métaboliquement actifs qui dégradent la MO native du sol et ainsi relarguent du CO<sub>2</sub>.

Les résultats après amendement des microcosmes avec des résidus de blé marqués au <sup>13</sup>C montrent une augmentation du taux de CO<sub>2</sub> total relargué par rapport aux microcosmes contrôles. L'application de blé résulte alors d'une meilleure minéralisation du C organique (Li *et al.*, 2018).

La majorité des molécules de CO<sub>2</sub> relarguées dans les microcosmes amendés sont marquées au <sup>13</sup>C ce qui signifie qu'une grande partie de la respiration totale correspond à la respiration liée à la dégradation des résidus de blé qui sont métabolisés par les microorganismes hétérotrophes. Le <sup>13</sup>CO<sub>2</sub> (Respiration résidu) produit pendant l'incubation montre donc que les microorganismes dégradent principalement la MO fraîche (Fontaine *et al.*, 2007). Durant la première semaine d'incubation caractérisée par une forte respiration, les communautés microbiennes décomposent les composés facilement dégradables de la MO apportée. Puis, la respiration liée à la minéralisation du résidu ralentit et semble atteindre un plateau au bout de 21 jours d'incubation. Ceci traduit une diminution de l'activité microbienne lorsque les conditions deviennent limitantes suite à l'épuisement des nutriments et à une plus forte récalcitrance des résidus restants.

Les études menées par Fontaine *et al.* (2003, 2004, 2007) ont montré que l'ajout de MO fraîche peut augmenter la dégradation de la MO native du sol. Ce phénomène appelé Priming Effect (PE) a été mis en évidence dans les microcosmes amendés par soustraction de la respiration totale par celle de la respiration basale et celle liée aux résidus. Les résultats montrent une augmentation continue jusqu'au 28<sup>ème</sup> jour

d'incubation. L'addition de MO fraîche, apporte de l'énergie aux décomposeurs et stimule l'activité microbienne. Les microorganismes impliqués dans la dégradation de la MO auront assez d'énergie pour synthétiser des enzymes capables de dégrader la partie de MO des résidus moins facilement dégradable et par conséquent la fraction récalcitrante de la MO native du sol.

Enfin, les résultats obtenus montrent que pour les 4 activités la respiration est plus forte en prairie qu'en culture. Au bout de 28 jours d'incubation, la respiration basale est 155% plus forte en prairie qu'en culture. Mais lorsque le sol acquiert de la MO, la respiration totale n'est plus qu'à 44% supérieure en prairie qu'en culture. L'amendement avec des résidus de blé aurait permis aux communautés microbiennes du sol de culture de mieux dégrader la MO fraîchement ajoutée du fait que le blé est cultivé en rotation sur ce sol de culture. Les microorganismes présents en culture seraient donc plus aptes à dégrader ce type de MO. Cependant, l'activité microbienne reste tout de même plus élevée en prairie témoignant une meilleure utilisation du substrat par les communautés microbiennes. Ceci démontre que les capacités fonctionnelles des microorganismes sont impactées par les pratiques agricoles (Lienhard *et al.*, 2013 ; Creamer *et al.*, 2015 ; Van Leeuwen *et al.*, 2017).

### ***3. Influence des communautés microbiennes dans la respiration des sols lié aux pratiques agricoles***

L'ensemble de ces résultats semble démontrer un lien entre la composition des communautés microbiennes et la respiration du sol selon différentes pratiques agricoles. En effet, l'évolution de l'abondance microbienne ainsi que la respiration du sol sont corrélés.

Lors de la première semaine suivant l'amendement des sols, de fortes modifications sont mises en évidence au sein des communautés microbiennes. L'apport de MO augmente la biomasse microbienne en fournissant de l'énergie aux différentes communautés microbiennes. Cependant, selon le type de sol et donc des pratiques agricoles, les communautés fongiques et bactériennes ne sont pas stimulées de la même manière. Les bactéries réagissent plus fortement en culture tandis que les champignons mettent davantage de temps à se développer. Alors qu'en prairie, ce sont les champignons qui subissent un plus fort développement que les bactéries. La résultante de la différence d'évolution de la structure microbienne se traduit au niveau de l'activité de cette composante : une respiration totale gouvernée principalement par la respiration liée

à l'apport de résidus de blé plus forte en prairie qu'en culture. De plus, le PE a également augmenté de manière significative en prairie au bout d'une semaine d'incubation alors qu'en culture sa valeur n'est toujours pas significativement différente de la valeur initiale.

Ces observations montrent que l'apport de MO fraîche augmente la taille des populations microbiennes spécialisées dans la dégradation de la MO et ainsi la minéralisation de la MO (Fontaine *et al.*, 2005). Dans les premiers stades de décomposition des résidus de blé, des communautés copiotrophes caractérisées par un taux de croissance rapide entrent en jeu (Singh *et al.*, 2010). Ces communautés seront capables de dégrader facilement la fraction labile des résidus de blé apportés. L'augmentation de la respiration explique une minéralisation de la MO très forte la première semaine d'incubation. Par ailleurs, une meilleure respiration du sol en prairie semble être liée à l'activité des communautés fongiques présente en plus forte densité dans ce type de sol. De plus, une sur-minéralisation significative de la MO en prairie indique que les champignons spécialisés dans la dégradation de MO plus complexes sont présents dans le sol dès les premiers stades de dégradation et seront en mesure de dégrader la MO native du sol. Les champignons seraient alors des acteurs majeurs du PE.

Plus tardivement, il apparaît que les communautés bactériennes restent statistiquement stables pour les deux types de sol tandis que les communautés fongiques tendent à diminuer progressivement en prairie. En revanche, en culture les champignons atteignent leur densité maximale à 21 jours d'incubation, ce qui reste néanmoins inférieur à la densité fongique des sols de prairie. La réponse à cette variation de communautés microbiennes est un ralentissement de l'activité des microorganismes. L'explication de ce phénomène réside dans le fait que la cinétique de dégradation de la MO labile en MO récalcitrante sélectionne des communautés microbiennes dites oligotrophes. Ces communautés possédant des propriétés cataboliques plus importantes succèdent aux copiotrophes et participent à la dégradation de la MO récalcitrante. Cependant les oligotrophes ont un temps de dégradation du C organique plus lent, ce que montre la baisse d'émission de CO<sub>2</sub> (Singh *et al.*, 2010).

Si la minéralisation de la MO ralentie, le PE quant à lui augmente plus rapidement lors des stades tardifs de la dégradation de la MO. Le PE est alors principalement régi par les communautés oligotrophes. La densité des communautés bactériennes étant stable durant le reste de l'incubation, l'augmentation du PE serait liée aux communautés fongiques présentes. En 2011, Fontaine *et al.* suggérait déjà que les champignons jouent un rôle clé dans le PE dû à leur capacité d'explorer les réserves organiques dispersées

dans le sol par leur mycélium et par la production d'enzymes dégradant la MO récalcitrante du résidu et du sol.

D'autres études ont observé l'abondance microbienne et la minéralisation de la MO à plus long terme (Fontaine *et al.*, 2005 ; Fontaine *et al.*, 2007), ils remarquent ainsi une diminution de la biomasse et du PE. Les décomposeurs de la MO disparaissent lentement et la minéralisation cesse car l'acquisition d'énergie fournie au début de l'expérience n'est pas suffisante pour soutenir une activité biologique à long terme. Néanmoins, le PE persiste plusieurs mois après l'amendement ce qui a des conséquences majeures sur la balance de C. Sur la base des résultats obtenus, les pratiques agricoles ont un fort impact sur les communautés microbiennes, notamment pour la culture, en défavorisant la présence de champignons, c'est pourquoi on observe une plus faible minéralisation de la MO dans les sols cultivés (Fontaine *et al.*, 2007). Ces pratiques employées représentent alors un bon moyen de contrôler la minéralisation de la MO ainsi que le PE qui participe à la balance de C dans les sols (Lienhard *et al.*, 2013).

## V. Conclusions et perspectives

Cette étude utilise différentes méthodes complémentaires afin de déterminer comment la respiration du sol est influencée par les différentes pratiques agricoles *via* les communautés microbiennes impliquées dans la dégradation de la MO.

Les analyses moléculaires permettent d'observer la biomasse microbienne ainsi que la densité des communautés fongiques et bactériennes. Les résultats obtenus après ajout de MO fraîche montrent que les pratiques agricoles diminuent l'abondance microbienne, mais perturbent également le rapport F/B. Ces différentes pratiques ont un impact sur la présence de certaines communautés microbiennes. Notamment certaines pratiques (comme le labour) défavorisent le développement des champignons. D'autre part, la fonctionnalité des communautés microbiennes est étudiée par le biais de la minéralisation de la MO. L'analyse de la respiration du sol indique que la MO des sols de prairie est mieux minéralisée qu'en culture. Cette minéralisation de la MO est gouvernée par l'interaction entre les effets de la biomasse et la structure des communautés microbiennes. Les organismes oligotrophes et plus particulièrement les communautés fongiques jouent un rôle majeur dans la dégradation de la MO et participent ainsi à la balance de C dans les sols.

Ce travail ouvre sur plusieurs perspectives de recherches. Tout d'abord, il aurait été intéressant de suivre en parallèle la dégradation des résidus de blé ajoutés dans les microcosmes afin de déterminer quel type de MO est dégradé au cours de l'incubation (cellulose, lignine, etc...). De plus, une analyse de la diversité génétique et fonctionnelle par séquençage massif sans *a priori* permettrait d'identifier des marqueurs génétiques associés à la dégradation de la MO dans le sol et ainsi de mieux comprendre comment les communautés microbiennes sont impliquées dans la minéralisation du C organique. Par ailleurs, cette même étude pourrait être expérimentée *in situ* afin d'étudier l'influence de la variation des paramètres pédoclimatiques combiné aux pratiques agricoles sur la fonctionnalité des communautés microbiennes.

Une meilleure compréhension de l'impact des pratiques agricoles sur les capacités fonctionnelles des microorganismes est pertinente en agroécologie et permettrait de manipuler certaines pratiques dans le but de stabiliser la balance minéralisation/séquestration de C dans les sols.

## Références bibliographiques

- Barrios, E. (2007). Soil biota, ecosystem services and land productivity. *Ecological economics*, 64(2), 269-285.
- Baumann, K. Dignac, M.F. Rumpel, C. Bardoux, G. Sarr, A. Steffens, M. and Maron, P.A. (2013). Soil microbial diversity affects soil organic matter decomposition in a silty grassland soil. *Biogeochemistry*. 114(1-3), 201-212.
- Bender, S.F. Wagg, C. and van der Heijden, M.G. (2016). An underground revolution: biodiversity and soil ecological engineering for agricultural sustainability. *Trends in ecology & evolution*. 31(6), 440-452.
- Bernard, L. Maron, P.A. Mougel, C. Nowak, V. Lévêque, J. Marol, C. Balesdent, J. Gibiat, F. Ranjard, L. (2009). Contamination of soil by copper affects the dynamics, diversity, and activity of soil bacterial communities involved in wheat decomposition and carbon storage. *Appl. Environ. Microbiol.* 75(23), 7565-7569.
- Bissett, A. Richardson, A.E. Baker, G. and Thrall, P.H. (2011). Long-term land use effects on soil microbial community structure and function. *Applied Soil Ecology*. 51 : 66–78.
- Coleman, D.C. and Whitman, W.B. (2005). Linking species richness, biodiversity and ecosystem function in soil systems. *Pedobiologia*. 49(6), 479-497.
- Creamer, R.E. Stone, D. Berry, P. and Kuiper, I. (2016). Measuring respiration profiles of soil microbial communities across Europe using MicroResp™ method. *Applied soil ecology*. 97, 36-43.
- Dequiedt, S. Saby, N.P.A. Lelievre, M. Jolivet, C. Thioulouse, J. Toutain, B. Arrouays, D. Bispo, P. Lemanceau, P. Ranjard, L. (2011). Biogeographical patterns of soil molecular microbial biomass as influenced by soil characteristics and management. *Global Ecology and Biogeography*. 20(4), 641-652.
- Don, A. Böhme, I.H. Dohrmann, A.B. Poeplau, C. and Tebbe, C.C. (2017). Microbial community composition affects soil organic carbon turnover in mineral soils. *Biology and fertility of soils*. 53(4), 445-456.
- Fierer, N. and Jackson, R.B. (2006). The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proc Natl Acad Sci USA*. 103(3) : 626–631.

- Fierer, N. Bradford, M.A. and Jackson, R.B. (2007). Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*. 88(6), 1354-1364.
- Fontaine, S. Mariotti, A. and Abbadie, L. (2003). The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biology and Biochemistry*. 35(6), 837-843.
- Fontaine, S. Bardoux, G. Abbadie, L. and Mariotti, A. (2004). Carbon input to soil may decrease soil carbon content. *Ecology letters*. 7(4), 314-320.
- Fontaine, S. and Barot, S. (2005). Size and functional diversity of microbe populations control plant persistence and long-term soil carbon accumulation. *Ecology Letters*. 8(10), 1075-1087.
- Fontaine, S. Barot, S. Barré, P. Bdioui, N. Mary, B. and Rumpel, C. (2007). Stability of organic carbon in deep soil layers controlled by fresh carbon supply. *Nature*. 450(7167), 277.
- Fontaine, S. Henault, C. Amor, A. Bdioui, N. Bloor, J.M.G. Maire, V. Mary, B. Revaillet, S. Maron, P.A. (2011). Fungi mediate long term sequestration of carbon and nitrogen in soil through their priming effect. *Soil biology and Biochemistry*, 43(1), 86-96.
- Giller, K.E. Beare, M.H. Lavelle, P. Izac, A.M. and Swift, M.J. (1997). Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. *Applied soil ecology*. 6(1), 3-16.
- Gobat, J.M. Aragno, M. and Matthey, W. (2010). *Le sol vivant: bases de pédologie, biologie des sols (Vol. 14)*. PPUR Presses polytechniques.
- Jangid, K. Williams, M.A. Franzluebbers, A.J. Sanderlin, J.S. Reeves, J.H. Jenkins, M.B. Endale, D.M. Coleman, D.C. Whitman, W.B. (2008). Relative impacts of land-use, management intensity and fertilization upon soil microbial community structure in agricultural systems. *Soil Biology and Biochemistry*. 40(11), 2843-2853.
- Karimi, B. Prevost-Bouré, N. C. Dequiedt, S. Terrat, S. and Ranjard, L. (2018). *Atlas français des bactéries du sol*. Biotope éditions.
- Kibblewhite, M.G. Ritz, K. and Swift, M. J. (2007). Soil health in agricultural systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 363(1492), 685-701.

- Le Guillou, C. Angers, D.A. Maron, P.A. Leterme, P. and Menasseri-Aubry, S. (2012). Linking microbial community to soil water-stable aggregation during crop residue decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*. 50, 126-133.
- Lemanceau, P. Maron, P.A. Mazurier, S. Mougél, C. Pivato, B. Plassart, P. Ranjard, L. Revelin, C. Tardy, V. and Wipf, D. (2015). Understanding and managing soil biodiversity: a major challenge in agroecology. *Agronomy for sustainable development*. 35(1), 67-81.
- Li, J. Wu, X. Gebremikael, M.T. Wu, H. Cai, D. Wang, B. Li, B. Zhang, J. Li, Y. and Xi, J. (2018). Response of soil organic carbon fractions, microbial community composition and carbon mineralization to high-input fertilizer practices under an intensive agricultural system. *PloS one*. 13(4), e0195144.
- Lienhard, P. Terrat, S. Mathieu, O. Levêque, J. Prévost-Bouré, N.C. Nowak, V. Régnier, T. Faivre, C. Sayphoummie, S. Panyasiri, K. Tivet, F. Ranjard, L. Maron, P.A. (2013). Soil microbial diversity and C turnover modified by tillage and cropping in Laos tropical grassland. *Environmental chemistry letters*. 11(4), 391-398.
- Manlay, R.J. Feller, C. Swift, M.J. (2007). Historical evolution of soil organic matter concepts and their relationships with the fertility and sustainability of cropping systems. *Agriculture Ecosystems and Environment*. 119 (3-4), 217-233.
- Maron, P.A. Mougél, C. and Ranjard, L. (2011). Soil microbial diversity: methodological strategy, spatial overview and functional interest. *Comptes rendus biologiques*. 334(5-6), 403-411.
- Maron, P.A. Sarr, A. Kaisermann, A. Lévêque, J. Mathieu, O. Guigue, J. Karimi, B. Bernard, L. Dequiedt, S. Terrat, S. Chabbi, A. and Ranjard, L. (2018). High microbial diversity promotes soil ecosystem functioning. *Appl. Environ. Microbiol.* 84(9), e02738-17.
- Millennium Ecosystem Assessment (2005). *Ecosystems and human well-being (Vol. 5)*. Washington, DC:: Island press.
- Pascault, N. Nicolardot, B. Bastian, F. Thiébeau, P. Ranjard, L. and Maron, P.A. (2010). In situ dynamics and spatial heterogeneity of soil bacterial communities under different crop residue management. *Microbial ecology*. 60(2), 291-303.
- Pascault, N. Ranjard, L. Kaisermann, A. Bachar, D. Christen, R. Terrat, S. Mathieu, O. Lévêque, J. Mougél, C. Henault, C. Péan, M. Boiry, S. Fontaine, S. Maron, P.A. and Lemanceau, P. (2013). Stimulation of different functional groups of bacteria by various plant residues as a driver of soil priming effect. *Ecosystems*. 16(5), 810-822.



Perveen, N. Barot, S. Maire, V. Cotrufo, M.F. Shahzad, T. Blagodatskaya, E. Stewart, C.E. Ding, W. Siddiq, M.R. Dimassi, B. Mary, B. Fontaine, S. (2019). Universality of priming effect: An analysis using thirty five soils with contrasted properties sampled from five continents. *Soil Biology and Biochemistry*. 134, 162-171.

Poll, C. Marhan, S. Ingwersen, J. and Kandeler, E. (2008). Dynamics of litter carbon turnover and microbial abundance in a rye detritusphere. *Soil Biology and Biochemistry*. 40(6), 1306-1321.

Singh, B.K. Bardgett, R.D. Smith, P. and Reay, D.S. (2010). Microorganisms and climate change: terrestrial feedbacks and mitigation options. *Nature Reviews Microbiology*. 8(11), 779.

Szoboszlay, M. Dohrmann, A.B. Poeplau, C. Don, A. and Tebbe, C.C. (2017). Impact of land-use change and soil organic carbon quality on microbial diversity in soils across Europe. *FEMS microbiology ecology*. 93(12), fix146.

Tardy V (2014) Lien entre la diversité microbienne, la stabilité des communautés microbiennes et le turnover des matières organiques du sol. Thèse de doctorat de l'université de Bourgogne.

Tardy, V. Chabbi, A. Charrier, X. De Berranger, C. Reignier, T. Dequiedt, S. Faivre-Primot, C. Terrat, S. Ranjard, L. and Maron, P.A. (2015a). Land use history shifts in situ fungal and bacterial successions following wheat straw input into the soil. *PLoS One*. 10(6), e0130672.

Tardy, V. Spor, A. Mathieu, O. Lévêque, J. Terrat, S. Plassart, P. Regnier, T. Bardgett, R.D. van der Putten, W.H. Roggero, P.P. Seddaiu, G. Bagella, S. Lemanceau, P. Ranjard, L. Maron, P.A. (2015b). Shifts in microbial diversity through land use intensity as drivers of carbon mineralization in soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 90, 204-213.

Thomson, B.C. Tisserant, E. Plassart, P. Uroz, S. Griffiths, R.I. Hannula, S.E. Buée, M. Mougél, C. Ranjard, L. Van Veen, J.A. Martin, F. Bailey, M.J. Lemanceau, P. (2015). Soil conditions and land use intensification effects on soil microbial communities across a range of European field sites. *Soil Biology and Biochemistry*. 88, 403-413.

Tian, Q. Taniguchi, T. Shi, W.Y. Li, G. Yamanaka, N. and Du, S. (2017). Land-use types and soil chemical properties influence soil microbial communities in the semiarid Loess Plateau region in China. *Scientific reports*. 7, 45289.

Van der Wal, A. Geydan, T.D. Kuyper, T.W. and De Boer, W. (2013). A thready affair: linking fungal diversity and community dynamics to terrestrial decomposition processes. *FEMS microbiology reviews*. 37(4), 477-494.

Van Leeuwen, J.P. Djukic, I. Bloem, J. Lehtinen, T. Hemerik, L. de Ruiter, P.C. and Lair, G.J. (2017). Effects of land use on soil microbial biomass, activity and community structure at different soil depths in the Danube floodplain. *European journal of soil biology*. 79, 14-20.

Williams, M.A. Myrold, D.D. and Bottomley, P.J. (2007). Carbon flow from <sup>13</sup>C-labeled clover and ryegrass residues into a residue-associated microbial community under field conditions. *Soil Biology and Biochemistry*. 39(3), 819-822.

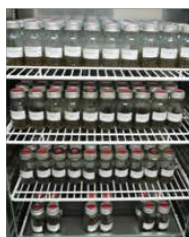
# Annexes

**Préparation des microcosmes (x78)**



Cinétique sur 51 jours

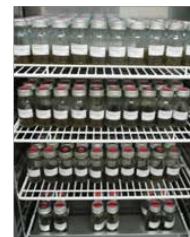
**Pré-Incubation (20°C; 7 jours)**



**Incorporation (blé marqué <sup>13</sup>C: 5 mg/g de sol sec)**



**Incubation (20°C; 51 jours)**



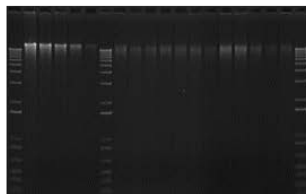
**Prélèvements des gaz**  
Dosage CO<sub>2</sub> et <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>



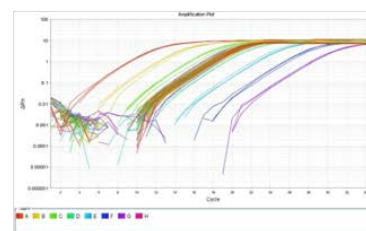
**Extraction**  
ADN total

**Purification**

**Biomasse moléculaire microbienne**



**Densité microbienne**



**Annexe 1 : Schéma expérimental de la préparation des microcosmes et des analyses réalisées au cours de l'incubation. (Adapté de Tardy V, 2014)**

**341F:** 5' CCT ACG GGA GGC AGC AG 3'

**515R:** 5' ATT ACC GCG GCT GCT GGC A 3'

**FR1 :** 5' AIC CAT TCA ATC GGT AIT 3'

**FF390 :** 5' CGA TAA CGA ACG AGA CCT 3'

**Annexe 2 : Séquences des amorces utilisées pour la qPCR. Les amorces 341F et 515R amplifient le gène de l'ADNr 16S tandis que les amorces FR1 et FF390 amplifient le gène de l'ADNr 18S.**

**Convention de stage n° 53308 entre**

*Nota : pour faciliter la lecture du document, les mots "stagiaire", "enseignant référent", "tuteur de stage", "représentant légal", et "étudiant" sont utilisés au masculin.*

<b>1 - L'ÉTABLISSEMENT D'ENSEIGNEMENT ou DE FORMATION</b>	<b>2 - L'ORGANISME D'ACCUEIL</b>
<p><b>Nom :</b> Université de Lorraine  <b>Adresse :</b> CS 25233 54052 Nancy  <b>Tél :</b>  <b>Représenté par (signataire de la convention) :</b>            Stéphane FLAMENT  <b>Qualité du représentant :</b> Doyen de la Faculté des Sciences et Technologies  <b>Composante/UFR :</b> MASTER MICROBIOLOGIE - M2  <b>Adresse (si différente de celle de l'établissement) :</b> Campus Aiguillettes - BP 70239 54506 VANDOEUVRE-LES-NANCY CEDEX  <b>Tél :</b> 03 72 74 51 39  <b>Mél :</b></p>	<p><b>Nom :</b> INRA INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE  <b>Adresse :</b> 17 Rue de sully 21000 DIJON FRANCE  <b>Représenté par (nom du signataire de la convention) :</b>            Mme MUNIER-JOLAIN Nathalie  <b>Qualité du représentant :</b> Présidente du centre INRA de Dijon  <b>Service dans lequel le stage sera effectué :</b>            UMR AGROECOLOGIE  <b>Tél :</b> 0380693670  <b>Mél :</b>  <b>Lieu du stage (si différent de l'adresse de l'organisme) :</b> 17 rue de sully 21000 DIJON FRANCE</p>

<b>3 - LE STAGIAIRE</b>
<p><b>Nom :</b> GEISLER    <b>Prénom :</b> Oceane    <b>Sexe :</b> F    <b>Né(e) le :</b> 16/11/1994    <b>Numéro d'étudiant :</b> 31210580  <b>Adresse :</b> 58 RUE DE L'EPINE 54800 JARNY FRANCE  <b>Tél :</b> 03.82.33.23.74    <b>Portable :</b> 0779492962    <b>Mél :</b> oceane.geisler8@etu.univ-lorraine.fr  <b>INTITULÉ DE LA FORMATION OU CURSUS SUIVI DANS L'ÉTABLISSEMENT D'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET VOLUME HORAIRE (ANNUEL OU SEMESTRIEL) :</b>            M2-Microbiologie (NANCY) (FI)  <b>Nombre d'heures de formation :</b> Plus de 200 heures.</p>

<p><b>SUJET DE STAGE :</b> Détermination de l'impact de l'intensification du mode d'usage sur les capacités fonctionnelles des microorganismes des sols en lien avec le turnover de la matière organique  <b>Dates :</b> du 01/02/2019 au 31/07/2019  <b>Correspondant à 840 heures de présence effective dans l'organisme d'accueil et représentant une durée totale de 5 mois 10 jour(s) et 0 heure(s)</b>  <b>Commentaire :</b></p>
--

<b>Encadrement du stagiaire par l'établissement d'enseignement</b>	<b>Encadrement du stagiaire par l'organisme d'accueil</b>
<p><b>Nom et prénom de l'enseignant référent :</b>            JORAND Frédéric  <b>Tél :</b> +33 3 72 74 73 80  <b>Mél :</b> frederic.jorand@univ-lorraine.fr</p>	<p><b>Nom et prénom du tuteur de stage :</b>            TERRAT Sébastien  <b>Fonction :</b> Maître de Conférences  <b>Tél :</b> 03 80 69 33 83  <b>Mél :</b> sebastien.terrat@inra.fr</p>

<p>Caisse Primaire d'Assurance Maladie à contacter en cas d'accident (lieu de domicile de l'étudiant sauf exception) :</p>
--

### **Article 1 - Objet de la convention**

La présente convention règle les rapports de l'organisme d'accueil avec l'établissement d'enseignement et le stagiaire.

### **Article 2 - Objectif du stage**

Le stage correspond à une période temporaire de mise en situation en milieu professionnel au cours de laquelle l'étudiant acquiert des compétences professionnelles et met en œuvre les acquis de sa formation en vue de l'obtention d'un diplôme ou d'une certification et de favoriser son insertion professionnelle. Le stagiaire se voit confier une ou des missions conformes au projet pédagogique défini par son établissement d'enseignement et approuvées par l'organisme d'accueil.

Le programme est établi par l'établissement d'enseignement et l'organisme d'accueil en fonction du programme général de la formation dispensée.

#### **ACTIVITÉS CONFIEES :**

L'étudiant aura en charge la mise en place de l'expérimentation, le suivi des manipulations durant toute l'expérimentation, l'acquisition et le traitement des données.

#### **Compétences à acquérir ou à développer :**

Maîtriser les outils statistiques. Rédaction de rapports et synthèse. Extraction d'ADN. Microbiologie. Biologie moléculaire. Ecologie fonctionnelle.

### **Article 3 - Modalités du stage**

La durée hebdomadaire de présence du stagiaire dans l'organisme d'accueil sera de **35.00 heures** sur la base d'un **Temps Plein**.

Si le stagiaire doit être présent dans l'organisme d'accueil la nuit, le dimanche ou un jour férié, préciser les cas particuliers :

### **Article 4 - Accueil et encadrement du stagiaire**

Le stagiaire est suivi par l'enseignant référent désigné dans la présente convention ainsi que par le service de l'établissement en charge des stages.

Le tuteur de stage désigné par l'organisme d'accueil dans la présente convention est chargé d'assurer le suivi du stagiaire et d'optimiser les conditions de réalisation du stage conformément aux stipulations pédagogiques définies.

Le stagiaire est autorisé à revenir dans son établissement d'enseignement pendant la durée du stage pour y suivre des cours demandés explicitement par le programme, ou pour participer à des réunions ; les dates sont portées à la connaissance de l'organisme d'accueil par l'établissement. L'organisme d'accueil peut autoriser le stagiaire à se déplacer.

Toute difficulté survenue dans la réalisation et le déroulement du stage, qu'elle soit constatée par le stagiaire ou par le tuteur de stage, doit être portée à la connaissance de l'enseignant-référent et de l'établissement d'enseignement afin d'être résolue au plus vite.

**MODALITÉS D'ENCADREMENT** (visites, rendez-vous téléphoniques, etc..)

#### **Encadrement par un responsable scientifique avec des réunions régulières**

### **Article 5 - Gratification - Avantages**

En France, lorsque la durée du stage est supérieure à deux mois consécutifs ou non, celui-ci fait obligatoirement l'objet d'une gratification, sauf en cas de règles particulières applicables dans certaines collectivités d'outre-mer françaises et pour les stages relevant de l'article L4381-1 du code de la santé publique.

Le montant horaire de la gratification est fixé à 15% du plafond horaire de la sécurité sociale défini en application de l'article L.241-3 du code de la sécurité sociale. Une convention de branche ou un accord professionnel peut définir un montant supérieur à ce taux.

La gratification due par un organisme de droit public ne peut être cumulée avec une rémunération versée par ce même organisme au cours de la période concernée.

La gratification est due sans préjudice du remboursement des frais engagés par le stagiaire pour effectuer son stage et des avantages offerts, le cas échéant, pour la restauration, l'hébergement, et le transport.

L'organisme peut décider de verser une gratification pour les stages dont la durée est inférieure ou égale à deux mois.

En cas de suspension ou de résiliation de la présente convention, le montant de la gratification due au stagiaire est proratisé en fonction de la durée du stage effectué.

La durée donnant droit à gratification s'apprécie compte tenu de la présente convention et de ses avenants éventuels, ainsi que du nombre de jours de présence effective du stagiaire dans l'organisme.

**LE MONTANT DE LA GRATIFICATION** est fixé à 3.75 euros Net par heure.

**Modalités de versement de la gratification : Virement bancaire**

### **Article 5 bis - Accès aux droits des salariés - Avantages**

(Organisme de droit privé en France sauf en cas de règles particulières applicables dans certaines collectivités d'outre-mer françaises) :

Le stagiaire bénéficie des protections et droits mentionnés aux articles L.1121-1, L.1152-1 et L.1153-1 du code du travail, dans les mêmes conditions que les salariés.

Le stagiaire a accès au restaurant d'entreprise ou aux titres-restaurants prévus à l'article L.3262-1 du code du travail, dans les mêmes conditions que les salariés de l'organisme d'accueil. Il bénéficie également de la prise en charge des frais de transport prévue à l'article L.3261-2 du même code.

Le stagiaire accède aux activités sociales et culturelles mentionnées à l'article L.2323-83 du code du travail dans les mêmes conditions que les salariés.

### Article 5ter - Accès aux droits des agents - Avantages

Organisme de droit public en France sauf en cas de règles particulières applicables dans certaines collectivités d'outre-mer françaises) :

Les trajets effectués par le stagiaire d'un organisme de droit public entre son domicile et son lieu de stage sont pris en charge dans les conditions fixées par le décret n°2010-676 du 21 juin 2010 instituant une prise en charge partielle du prix des titres d'abonnement correspondant aux déplacements effectués par les agents publics entre leur résidence habituelle et leur lieu de travail.

Le stagiaire accueilli dans un organisme de droit public et qui effectue une mission dans ce cadre bénéficie de la prise en charge de ses frais de déplacement temporaire selon la réglementation en vigueur.

Est considéré comme sa résidence administrative le lieu du stage indiqué dans la présente convention.

**AUTRES AVANTAGES ACCORDÉS (associés à l'article 5bis ou 5ter selon le statut public ou privé de l'organisme d'accueil) :**

Accès à la restauration du personnel INRA

### Article 6 - Régime de protection sociale

Pendant la durée du stage, le stagiaire reste affilié à son régime de Sécurité sociale antérieur. Les stages effectués à l'étranger sont signalés préalablement au départ du stagiaire à la Sécurité sociale lorsque celle-ci le demande.

Pour les stages à l'étranger, les dispositions suivantes sont applicables sous réserve de conformité avec la législation du pays d'accueil et de celle régissant le type d'organisme d'accueil.

#### 6.1 - Gratification d'un montant maximum de 15% du plafond horaire de la Sécurité sociale :

La gratification n'est pas soumise à cotisation sociale.

Le stagiaire bénéficie de la législation sur les accidents de travail au titre du régime étudiant de l'article L.412-8 2° du code de la Sécurité sociale.

En cas d'accident survenant au stagiaire soit au cours d'activités dans l'organisme, soit au cours du trajet, soit sur les lieux rendus utiles pour les besoins du stage et pour les étudiants en médecine, en chirurgie dentaire ou en pharmacie qui n'ont pas un statut hospitalier pendant le stage effectué dans les conditions prévues au b du 2e de l'article L.412-8, l'organisme d'accueil envoie la déclaration à la Caisse Primaire d'Assurance Maladie ou la caisse compétente (voir adresse en page I) en mentionnant l'établissement d'enseignement comme employeur, avec copie à l'établissement d'enseignement.

#### 6.2 - Gratification supérieure à 15 % du plafond horaire de la Sécurité sociale :

Les cotisations sociales sont calculées sur le différentiel entre le montant de la gratification et 15 % du plafond horaire de la Sécurité sociale.

L'étudiant bénéficie de la couverture légale en application des dispositions des articles L.411-1 et suivants du code de la Sécurité sociale.

En cas d'accident survenant au stagiaire soit au cours des activités dans l'organisme, soit au cours du trajet, soit sur des lieux rendus utiles pour les besoins de son stage, l'organisme d'accueil effectue toutes les démarches nécessaires auprès de la Caisse Primaire d'Assurance Maladie et informe l'établissement dans les meilleurs délais.

#### 6.3 - Protection maladie du stagiaire à l'étranger :

##### 1) Protection issue du régime étudiant français

- pour les stages au sein de l'Espace Economique Européen (EEE) effectués par des ressortissants d'un Etat de l'Union Européenne, ou de la Norvège, de l'Islande, du Liechtenstein ou de la Suisse, ou encore de tout autre Etat (dans ce dernier cas, cette disposition n'est pas applicable pour un stage au Danemark, Norvège, Islande, Liechtenstein ou Suisse), l'étudiant doit demander la Carte Européenne d'Assurance Maladie (CEAM).

- pour les stages effectués au Québec par les étudiants de nationalité française, l'étudiant doit demander le formulaire SE401Q (104 pour les stages en entreprises, 106 pour les stages en universités) ;

- dans tous les autres cas les étudiants qui engagent des frais de santé peuvent être remboursés auprès de la mutuelle qui leur tient lieu de Caisse de Sécurité Sociale Étudiante, au retour et sur présentation des justificatifs : le remboursement s'effectue alors sur la base des tarifs de soins français. Des écarts importants peuvent exister entre les frais engagés et les tarifs français, base du remboursement. Il est donc fortement conseillé aux étudiants de souscrire une assurance maladie complémentaire spécifique, valable pour le pays et la durée du stage, auprès de l'organisme d'assurance de son choix (mutuelle étudiante, mutuelle des parents, compagnie privée ad hoc...) ou, éventuellement et après vérification de l'étendue des garanties proposées, auprès de l'organisme d'accueil si celui-ci fournit au stagiaire une couverture maladie en vertu du droit local (voir 2e ci-dessous).

##### 2) Protection sociale issue de l'organisme d'accueil

En cochant la case appropriée, l'organisme d'accueil indique ci-après s'il fournit une protection Maladie au stagiaire, en vertu du droit local :

OUI : cette protection s'ajoute au maintien, à l'étranger, des droits issus du droit français.

NON : la protection découle alors exclusivement du maintien, à l'étranger, des droits issus du régime français étudiant.

Si aucune case n'est cochée, le 6.3-1 s'applique.

#### 6.4 - Protection Accident du Travail du stagiaire à l'étranger

1) Pour pouvoir bénéficier de la législation française sur la couverture accident de travail, le présent stage doit :

- être d'une durée au plus égale à 6 mois, prolongations incluses ;

- ne donner lieu à aucune rémunération susceptible d'ouvrir des droits à une protection accident de travail dans le pays d'accueil ; une indemnité ou gratification est admise dans la limite de 15% du plafond horaire de la sécurité sociale (cf point 5), et sous réserve de l'accord de la Caisse Primaire d'Assurance Maladie sur la demande de maintien de droit ;

- se dérouler exclusivement dans l'organisme signataire de la présente convention ;

- se dérouler exclusivement dans le pays d'accueil étranger cité.

Lorsque ces conditions ne sont pas remplies, l'organisme d'accueil s'engage à cotiser pour la protection du stagiaire et à faire les déclarations nécessaires en cas d'accident de travail.

2) La déclaration des accidents de travail incombe à l'établissement d'enseignement qui doit en être informé par l'organisme d'accueil par écrit dans un délai de 48 heures.

3) La couverture concerne les accidents survenus :

- dans l'enceinte du lieu du stage et aux heures du stage,
- sur le trajet aller-retour habituel entre la résidence du stagiaire sur le territoire étranger et le lieu du stage,
- dans le cadre d'une mission confiée par l'organisme d'accueil du stagiaire et obligatoirement par ordre de mission,
- lors du premier trajet pour se rendre depuis son domicile sur le lieu de sa résidence durant le stage (déplacement à la date du début du stage),
- lors du dernier trajet de retour depuis sa résidence durant le stage à son domicile personnel.

4) Pour le cas où l'une seule des conditions prévues au point 6.4-1) n'est pas remplie, l'organisme d'accueil s'engage à couvrir le stagiaire contre le risque d'accident de travail, de trajet et les maladies professionnelles et à en assurer toutes les déclarations nécessaires.

5) Dans tous les cas :

- si l'étudiant est victime d'un accident de travail durant le stage, l'organisme d'accueil doit impérativement signaler immédiatement cet accident à l'établissement d'enseignement ;
- si l'étudiant remplit des missions limitées en dehors de l'organisme d'accueil ou en dehors du pays du stage, l'organisme d'accueil doit prendre toutes les dispositions nécessaires pour lui fournir les assurances appropriées.

#### **Article 7 - Responsabilité et assurance**

L'organisme d'accueil et le stagiaire déclarent être garantis au titre de la responsabilité civile.

Pour les stages à l'étranger ou outre-mer, le stagiaire s'engage à souscrire un contrat d'assistance (rapatriement sanitaire, assistance juridique...) et un contrat d'assurance individuel accident.

Lorsque l'organisme d'accueil met un véhicule à la disposition du stagiaire, il lui incombe de vérifier préalablement que la police d'assurance du véhicule couvre son utilisation par un étudiant.

Lorsque dans le cadre de son stage, l'étudiant utilise son propre véhicule ou un véhicule prêté par un tiers, il déclare expressément à l'assureur dudit véhicule et, le cas échéant, s'acquitte de la prime y afférente.

#### **Article 8 - Discipline**

Le stagiaire est soumis à la discipline et aux clauses du règlement intérieur qui lui sont applicables et qui sont portées à sa connaissance avant le début du stage, notamment en ce qui concerne les horaires et les règles d'hygiène et de sécurité en vigueur dans l'organisme d'accueil.

Toute sanction disciplinaire ne peut être décidée que par l'établissement d'enseignement. Dans ce cas, l'organisme d'accueil informe l'enseignant référent et l'établissement des manquements et fournit éventuellement les éléments constitutifs.

En cas de manquement particulièrement grave à la discipline, l'organisme d'accueil se réserve le droit de mettre fin au stage tout en respectant les dispositions fixées à l'article 9 de la présente convention.

#### **Article 9 - Congés - Interruption du stage**

En France (sauf en cas de règles particulières applicables dans certaines collectivités d'outre-mer françaises ou dans les organismes de droit public), en cas de grossesse, de paternité ou d'adoption, le stagiaire bénéficie de congés et d'autorisations d'absence d'une durée équivalente à celle prévue pour les salariés aux articles L.1225-16 à L.1225-28, L.1225-35, L.1225-37, L.1225-46 du code du travail.

Pour les stages dont la durée est supérieure à deux mois et dans la limite de la durée maximale de 6 mois, des congés ou autorisations d'absence sont possibles.

NOMBRE DE JOURS DE CONGES AUTORISES / ou modalités des congés et autorisations d'absence durant le stage :  
2,5 jours / mois

Pour toute autre interruption temporaire du stage (maladie, absence injustifiée...) l'organisme d'accueil avertit l'établissement d'enseignement par courrier.

Toute interruption du stage, est signalée aux autres parties à la convention et à l'enseignant référent. Une modalité de validation est mise en place le cas échéant par l'établissement. En cas d'accord des parties à la convention, un report de la fin du stage est possible afin de permettre la réalisation de la durée totale du stage prévue initialement. Ce report fera l'objet d'un avenant à la convention de stage.

Un avenant à la convention pourra être établi en cas de prolongation du stage sur demande conjointe de l'organisme d'accueil et du stagiaire, dans le respect de la durée maximale du stage fixée par la loi (6 mois).

En cas de volonté d'une des trois parties (organisme d'accueil, stagiaire, établissement d'enseignement) d'arrêter le stage, celle-ci doit immédiatement en informer les deux autres parties par écrit. Les raisons invoquées seront examinées en étroite concertation. La décision définitive d'arrêt du stage ne sera prise qu'à l'issue de cette phase de concertation.

#### **Article 10 - Devoir de réserve et confidentialité**

Le devoir de réserve est de rigueur absolue et apprécié par l'organisme d'accueil compte-tenu de ses spécificités. Le stagiaire prend donc l'engagement de n'utiliser en aucun cas les informations recueillies ou obtenues pour en faire publication, communication à des tiers sans accord préalable de l'organisme d'accueil, y compris le rapport de stage. Cet engagement vaut non seulement pour la durée du stage mais également après son expiration. Le stagiaire s'engage à ne conserver, emporter, ou prendre copie d'aucun document ou logiciel, de quelque nature que ce soit, appartenant à l'organisme d'accueil, sauf accord de ce dernier.

Dans le cadre de la confidentialité des informations contenues dans le rapport de stage, l'organisme d'accueil peut demander une restriction de la diffusion du rapport, voire le retrait de certains éléments confidentiels.

Les personnes amenées à en connaître sont contraintes par le secret professionnel à n'utiliser ni ne divulguer les informations du rapport.

### Article 11 - Propriété intellectuelle

Conformément au code de la propriété intellectuelle, dans le cas où les activités du stagiaire donnent lieu à la création d'une œuvre protégée par le droit d'auteur ou la propriété industrielle (y compris un logiciel), si l'organisme d'accueil souhaite l'utiliser et que le stagiaire en est d'accord, un contrat devra être signé entre le stagiaire (auteur) et l'organisme d'accueil.  
Le contrat devra alors notamment préciser l'étendue des droits cédés, l'éventuelle exclusivité, la destination, les supports utilisés et la durée de la cession, ainsi que, le cas échéant, le montant de la rémunération due au stagiaire au titre de la cession. Cette clause s'applique quel que soit le statut de l'organisme d'accueil.

### Article 12 - Fin de stage - Rapport - Evaluation

1) Attestation de stage : à l'issue du stage, l'organisme d'accueil délivre une attestation dont le modèle figure en annexe, mentionnant au minimum la durée effective du stage et, le cas échéant, le montant de la gratification perçue. Le stagiaire devra produire cette attestation à l'appui de sa demande éventuelle d'ouverture de droits au régime général d'assurance vieillesse prévue à l'art. L.351-17 du code de la sécurité sociale.

2) Qualité du stage : à l'issue du stage, les parties à la présente convention sont invitées à formuler une appréciation sur la qualité du stage. Le stagiaire transmet au service compétent de l'établissement d'enseignement un document dans lequel il évalue la qualité de l'accueil dont il a bénéficié au sein de l'organisme d'accueil. Ce document n'est pas pris en compte dans son évaluation ou dans l'obtention du diplôme ou de la certification.

3) Évaluation de l'activité du stagiaire : à l'issue du stage, l'organisme d'accueil renseigne une fiche d'évaluation de l'activité du stagiaire qu'il retourne à l'enseignant référent (ou préciser si fiche annexe ou modalités d'évaluation préalablement définies en accord avec l'enseignant référent).

4) Modalités d'évaluation pédagogiques : Rapport de Stage, Rapport et soutenance

NOMBRE D'ECTS (le cas échéant) : 30.00

5) Le tuteur de l'organisme d'accueil ou tout membre de l'organisme d'accueil appelé à se rendre dans l'établissement d'enseignement dans le cadre de la préparation, du déroulement et de la validation du stage ne peut prétendre à une quelconque prise en charge ou indemnisation de la part de l'établissement d'enseignement.

### Article 13 - Droit applicable - Tribunaux compétents

La présente convention est régie exclusivement par le droit français.

Tout litige non résolu par voie amiable sera soumis à la compétence de la juridiction française compétente.

FAIT À ..... le .....

#### POUR L'ÉTABLISSEMENT D'ENSEIGNEMENT

Viseur du centre, par délégation, Stéphane FLAMENT

Le Directeur du Secteur Biologie  
Faculté des Sciences et Technologies  
Dijon, le 27/10/2018 ds

STAGIAIRE (ou son représentant légal le cas échéant)

Océane GEISLER

#### L'enseignant référent du stagiaire

Frédéric JORAND

#### POUR L'ORGANISME D'ACCUEIL

Nathalie MUNIER-JOLAIN

Dijon, le 27/10/2018 ds

Nathalie MUNIER-JOLAIN

Présidente du Centre INRA

Bourgogne-Franche-Comté

#### Le tuteur de stage de l'organisme d'accueil

Sébastien TERRAT

P. LEMANCEAU

Directeur

Fiches à annexer à la convention : 1) Attestation de stage / 2) Fiche de stage à l'étranger (pour informations sécurité sociale voir site cleiss.fr - pour fiche pays voir site diplomatie.gouv.fr) / 3) Autres annexes (le cas échéant)



## Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier l'impact des pratiques agricoles sur la respiration du sol à travers les communautés microbiennes impliquées dans la dégradation de la matière organique (MO). Cette expérimentation est réalisée en conditions contrôlées (microcosmes) sur deux types de sols soumis à des pratiques agricoles différentes (prairie et culture). Cette étude est basée sur la complémentarité d'approches moléculaires et fonctionnelles. D'une part, les analyses moléculaires permettent de visualiser l'impact des pratiques sur les communautés microbiennes présentes dans le sol grâce à une estimation de la biomasse microbienne et à la densité des communautés fongiques et bactériennes. D'autre part, les analyses fonctionnelles permettent d'observer l'impact des pratiques sur la respiration du sol grâce à la quantification des flux de CO<sub>2</sub> liés à la dégradation de la MO. Par conséquent, l'analyse de l'influence des microorganismes dans la dégradation de la MO lié aux pratiques agricoles est possible.

**Mots clés** : Biomasse, Densité microbienne, Respiration du sol, « Priming Effect », Dégradation de la MO

## Abstract

The objective of this work is to study the impact of agricultural practices on soil respiration through the microbial communities involved in the degradation of organic matter (OM). This experiment is carried out under controlled conditions (microcosms) on two types of soils subjected to different agricultural practices (grassland and cropland). This study is based on the complementarity of molecular and functional approaches. On the one hand, molecular analyzes visualize the impact of these practices on the microbial communities present in the soil through an estimation of microbial biomass and the density of fungal and bacterial communities. On the other hand, functional analyzes make it possible to observe the impact of these practices on soil respiration by quantifying the CO<sub>2</sub> fluxes associated with the degradation of OM. Consequently, the analysis of the influence of microorganisms in OM degradation related to agricultural practices is possible.

**Key words** : Biomass, Microbial density, Soil Respiration, Priming Effect, OM Turnover