



Effets de l'introduction du pois dans une succession de cultures sur certaines communautés végétales et bactériennes et leurs fonctions écosystémiques associées

Nicolas Romillac

► To cite this version:

Nicolas Romillac. Effets de l'introduction du pois dans une succession de cultures sur certaines communautés végétales et bactériennes et leurs fonctions écosystémiques associées. Sciences agricoles. Université de Lorraine, 2015. Français. NNT : 2015LORR0266 . tel-01752202

HAL Id: tel-01752202

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01752202>

Submitted on 29 Mar 2018

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.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



UNIVERSITÉ
DE LORRAINE



INRA
SCIENCE & IMPACT

Ecole Doctorale RP2E

UMR Université de Lorraine-INRA 1121 Agronomie et Environnement

Thèse de Doctorat

Présentée et soutenue publiquement le 9 décembre 2015 pour l'obtention du grade de docteur de l'Université de Lorraine (spécialité : Sciences Agronomiques)

par

Nicolas Romillac

Effets de l'introduction du pois dans une succession de cultures sur certaines communautés végétales et bactériennes et leurs fonctions écosystémiques associées

Devant le jury :

Rapporteurs

Laurent PHILIPPOT
Jean ROGER-ESTRADE

Directeur de Recherche, INRA
Professeur, AgroParisTech

Examineurs

Bruno CHAUVEL
Sophie SLEZACK-DESCHAUMES

Chargé de Recherche, INRA
Maître de Conférences, Université de Lorraine

Directeur de thèse

Bernard AMIAUD

Professeur, Université de Lorraine

Co-directrice de thèse Séverine PIUTTI

Maître de Conférences, Université de Lorraine

Travail réalisé au Laboratoire Agronomie et Environnement, UMR 1121, F-4518
Vandœuvre-lès-Nancy

Effets de l'introduction du pois dans une succession de cultures sur certaines communautés végétales et bactériennes et leurs fonctions écosystémiques associées

*Ou sème un pur froment dans le même terrain
Qui n'a produit d'abord que le frêle lupin,
Ou la vesce légère, ou ces moissons bruyantes
De pois retentissants dans leurs cosses tremblantes.
Pour l'avoine et le lin, et les pavots brûlants,
De leurs sucs nourriciers ils épuisent les champs :
La terre toutefois, malgré leurs influences,
Pourra par intervalle admettre ces semences,
[...]
La terre ainsi repose en changeant de richesses ;
Mais un entier repos redouble ses largesses.*

Virgile, Les Géorgiques

Remerciements

Je remercierai tout d'abord mes encadrants, Séverine Piutti, Sophie Deschaumes et Bernard Amiaud, pour m'avoir accueilli au laboratoire (et surtout pour avoir relu la thèse dans les dernières semaines, en plus de l'enseignement !). Je remercie également les membres de mon comité de suivi : Sylvie Recous, Franck Poly et Etienne Gaujour ainsi Jean Roger-estrade, Bruno Chauvel et Laurent Philippot, qui ont bien voulu faire partie du jury.

Je tiens à remercier les techniciens du LAE, particulièrement Joffrey Pernot pour l'assistance sur le terrain mais aussi Aude pour les mises au point sur la méthode CNS et Claude pour les manips en phytotron (Julie, maintenant c'est à toi de faire des qPCR !). Un merci également aux personnels du LSE qui m'ont gentiment accueilli à chaque panne de machine au LAE.

Je remercie Jean Villerd et Simon, pour leur assistance en statistiques (j'ai fini par aimer ça !), ainsi que ma stagiaire, Sara Benkirane.

Une petite pensée pour les 5 942 plantes, les 40 028 625 694 bactéries et les 2 515 782 929 champignons qui ont trouvé la mort au-cours des expérimentations de cette thèse (comme quoi les plus faciles à étudier ne sont peut-être pas ceux que l'on croit)

Je remercie aussi mes collègues doctorants et néanmoins amis : Aline, Simon, Victoire et Célia, ainsi que les doctorants (et le technicien) du LSE (non pas pour leur assistance professionnelle), particulièrement Sophie qui a indirectement changé le cours de ma vie. Victoire et Célia, c'était un vrai plaisir de partager le bureau avec vous (et de décorer la porte du bureau).

Un merci à l'ensemble de la brasserie artisanale française qui a beaucoup compté par son soutien moral pour survivre dans cet Est sauvage. Heureusement que la désindustrialisation a donné un minimum d'attraction touristique (très personnelle) à la Lorraine.

Une pensée à mes amis nancéiens (Mathilde, Rudy, Vincent, Maryam, Clément, Ségolène) que je vais bientôt quitter, à mes amis ex-montpelliérains que je vais peut-être retrouver et à mes colocataires.

Mes dernières pensées vont à Lucia, mon amour, sans qui je n'aurai peut-être pas été jusqu'au bout.



©Nicolas Romillac 2015

Cette œuvre (texte et illustrations, à l'exception des logos Université de Lorraine et Inra, de la partie « Influence of root traits modulating soil bioavailable C and N on ammonification activity along pea development » et de l'annexe 1) est mise à disposition selon les termes de la Licence Creative Commons Attribution-Pas d'utilisation commerciale-Pas de modification 4.0 International. La restriction « Pas de modification » ne s'applique pas en cas de traduction vers une autre langue.

Pour accéder à une copie de cette licence, merci de vous rendre à l'adresse suivante <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/> ou envoyez un courrier à Creative Commons, 444 Castro Street, Suite 900, Mountain View, California, 94041, USA.

This work (text and illustrations with the exception of the Université de Lorraine and the Inra logos, the “Influence of root traits modulating soil bioavailable C and N on ammonification activity along pea development” chapter and the “annexe 1”) is licensed under a Creative Commons Attribution-No commercial use-ShareAlike 4.0 International Licence. The ShareAlike restriction does not apply to traductions in other languages.

To access a copy of this license, please go to <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/> or write to Creative Commons, 444 Castro Street, Suite 900, Mountain View, California, 94041, USA

Table des matières

Remerciements	5
Table des figures	11
Table des tableaux	19

Introduction générale	21

Chapitre 1. Synthèse bibliographique	33

1. Les communautés d'organismes, effecteurs des fonctions écosystémiques.....	35

2. Les microorganismes des sols	37

2.1 Abondance et diversité des communautés microbiennes	37

2.2 Les facteurs influençant l'abondance et la diversité des communautés microbiennes	39

2.3 La décomposition et la minéralisation de la matière organique : une fonction écosystémique contrôlée par les microorganismes	40

2.3.1 Azote et soufre, deux éléments indispensables pour la croissance des plantes cultivées.....	40

2.3.2 Deux familles d'enzymes microbiennes importantes pour la décomposition et la minéralisation : les protéases et les arylsulfatases.....	42

2.4 Régulation des activités microbiennes impliquées dans la décomposition et la minéralisation de la matière organique	45

2.4.1 Stœchiométrie et régulation de la balance minéralisation/immobilisation	45

2.4.2 Régulation des activités enzymatiques	45

2.5 Effet des pratiques agricoles sur les communautés microbiennes	51

2.5.2 Effet du travail du sol.....	57

2.5.3 Effet de la fertilisation	58

3. Les plantes adventices	60

3.1 Abondance et diversité.....	60

3.2 Déterminants de l'abondance et de la composition de la communauté adventice	61

3.3 La compétition avec la culture : une fonction écosystémique réalisée par les adventices	63

3.4 Déterminants de la compétition	64

3.4.1 Traits fonctionnels impliqués dans l'aptitude compétitive des plantes.....	64

3.4.2 Déterminants de la compétition à l'échelle de la communauté	67

3.5 Effet des pratiques agricoles sur les communautés d'adventices et la compétition culture- adventices.....	70

3.5.1 Effet des plantes cultivées.....	70

3.5.2 Travail du sol.....	74

3.5.4 Herbicides.....	75

3.5.6 Fertilisation.....	76

4. La diversification des rotations, levier majeur de l'agroécologie	77

4.1 Effet du pois sur les communautés microbiennes du sol.....	78

4.2 Effet du pois sur la communauté d'adventices	79

5. Objectifs de la thèse.....	80

Chapitre 2. Matériels et Méthodes.....	119

1. Expérimentation au champ	121
1.1 Présentation du site	121
1.2 Les successions culturales	123
1.3 Conduite des cultures.....	123
1.4 Echantillonnage au champ	125
1.4.1 Prélèvements du sol	125
1.4.2 Relevé et prélèvement des adventices	127
2. Expérimentation en conditions contrôlées	129
2.1 Expérimentation 1 : effet du développement du pois sur les communautés microbiennes protéolytiques et ammonifiantes.....	129
2.2 Expérimentation 2 : effet du précédent cultural, de l'enfouissement des résidus du pois et du développement du blé sur les communautés microbiennes protéolytiques et ammonifiantes	131
3. Variables mesurées sur le sol.....	133
3.1 Teneur des sols en C et N totaux et solubles et en N minéral	133
3.2 Activités enzymatiques microbiennes.....	134
3.3 Cinétiques de minéralisation de l'azote et du soufre.....	135
3.4 Abondance des bactéries cultivables	135
3.5 Biomasses microbiennes C et N	136
3.6 Extractions d'ADN de sol et PCR quantitative	137
3.7 Analyse métagénomique.....	138
4. Variables mesurées sur les plantes cultivées et adventices.....	139
4.1 Détermination des adventices et mesure de la biomasse	139
4.2 Mesure des traits fonctionnels aériens	139
4.3 Mesure des traits fonctionnels racinaires	141
4.4 Mesure de la compétition entre adventices et culture.....	143
5. Données météorologiques	144
6. Calcul des indices de diversité	145
6.1 Indices de diversité taxonomique et phylogénétique.....	145
6.2 Indices de diversité fonctionnelle	145
7. Analyses statistiques.....	146

Chapitre 3. Effet du pois et du blé en conditions contrôlées sur certaines communautés microbiennes impliquées dans le cycle de l'azote	153
Introduction	155
Influence of root traits modulating soil bioavailable C and N on ammonification activity along pea development	161
Supplementary information	169
Combined effects of pea residues and wheat root functional traits on soil protease activity	177
Introduction.....	178
Material and methods.....	180
Results	183
Discussion.....	187
Conclusion	192
Résumé du Chapitre 3.....	198

Chapitre 4. Effet en conditions réelles de l'introduction du pois dans une rotation de céréales et colza sur les communautés microbiennes et les adventices	201
Introduction	203
Response of microbial communities to crop species and interannual climatic variability at field scale.....	209
Introduction.....	210
Material and Methods.....	214
Results	219
Discussion.....	225
Conclusion	234
Effet de la composition de la rotation sur l'abondance, la composition et l'activité des communautés microbiennes sous le blé	245
Introduction.....	246
Matériels et Méthodes.....	248
Résultats	254
Discussion.....	262
Conclusion	265
Effect of crops species on crop-weeds functional niches overlap and weeds functional traits involved in competition	273
Introduction.....	274
Material and methods.....	276
Results	279
Discussion.....	285
Résumé du Chapitre 4.....	293
Chapitre 5. Discussion générale.....	297
Discussion générale	299
1. Effet des plantes cultivées sur les activités enzymatiques impliquées dans la .. minéralisation de l'azote et du soufre.....	300
1.1 Effet des plantes cultivées sur les activités enzymatiques impliquées dans la minéralisation : ammonification et activité arylsulfatase	302
1.2 Effet des plantes cultivées sur les activités enzymatiques impliquées dans la décomposition du N organique : cas de l'activité protéase	303
1.3. Bilan	305
2. Effet des plantes cultivées sur les adventices	306
3. Limites de l'étude	308
4. Perspectives.....	309
Annexes.....	321
Annexe 1.Enjeux et contributions des prairies temporaires pour améliorer la fertilité des sols	323
Annexe 2.Itinéraires techniques de l'expérimentation au champ	32333

Table des figures

<i>Introduction générale</i>	25
Figure 1. Représentation des systèmes de culture et de leurs externalités avant et après l'intensification du milieu du XXème siècle	27
Figure 2. Evolution des surfaces de légumineuses fourragères et de légumineuses à graines	30
Figure 3. Pressions s'exerçant sur les systèmes de production agricole intensive	30
Figure 4. Surfaces cultivées en pois par région	32
<i>Chapitre 1. Synthèse bibliographique</i>	34
Figure 1.1 Exemples de processus et de fonctions écosystémiques	35
Figure 1.2 Interactions entre filtres environnementaux, traits fonctionnels et fonctionnement de l'agroécosystème	36
Figure 2.1. Les microorganismes au cœur des cycles biogéochimiques dans les sols	40
Figure 2.2 Contrôles environnementaux de l'activité protéase	40
Figure 2.3 Contrôles environnementaux de l'activité arylsulfatase	41
Figure 2.4 Niveau d'action des pratiques agricoles sur le sol	50
Figure 3.1 Les perturbations et la compétition, deux déterminants de la composition des communautés d'adventices	
Figure 3.2 Classification des adventices en sept groupes fonctionnels en fonction de leurs traits fonctionnels	
Figure 3.3 Intensité de la compétition en fonction des niches écologiques des espèces et de la diversité des ressources présentes	
Figure 3.4 Classification des cultures en fonction de la composition spécifique de la communauté d'adventices au Danemark	
Figure 5.1 Schéma conceptuel de l'effet du pois sur les communautés microbiennes et végétales adventices	
<i>Chapitre 2. Matériels et Méthodes</i>	
Figure 1. Vue aérienne du site expérimental. En vert clair les bandes enherbées séparant les blocs	
Figure 2. Plan du dispositif expérimental sur 5 ans	
Figure 3. Exemple de d'essai rotation en décalage de phases, les rotations sont commencée à des stades différents sur des unités expérimentales différente	
Figure 4. Plan de prélèvement des adventices	
Figure 5. Adventices dans le pois en juin 2013	

Figure 6. Schéma du dispositif expérimental en conditions contrôlées

Figure 7. Expérimentation en phytotron

Figure 8. Recouvrement (overlap) entre la distribution des valeurs de traits de la culture et des adventices

Chapitre 3. Effet du pois et du blé en conditions contrôlées sur certaines communautés microbiennes impliquées dans le cycle de l'azote

Introduction

Figure 1. Schéma du dispositif expérimental en conditions contrôlées

Influence of root traits modulating soil bioavailable C and N on ammonification activity along pea development

Figure 1 Redundancy analysis of enzymatic activities in relation to the root growth related traits and root architecture related traits

Figure 2 Redundancy analysis of soil hot-water soluble C in relation to root-growth related traits and root-architecture related traits

Combined effects of pea residues and wheat root functional traits on soil protease activity

Figure 1 Potential protease activity at different wheat phenological stages and in different soil conditions

Figure 2 Comparison of soil variables by Principal Component Analysis from 14 to 89 days after sowing

Figure 3 Comparaison of root functional traits by Principal Component Analysis from 14 to 89 days after sowing

Figure 4 Redundancy analysis correlation biplots of protease activity in relation to soil variables

Figure 5 Redundancy analysis correlation biplots of microbial biomass N in relation to root functional traits

Résumé du Chapitre 3

Figure 1 Schéma représentant les effets du pois et du blé sur les activités potentielles protéase et d'ammonification mis en évidence dans notre étude

Chapitre 4. Effet en conditions réelles de l'introduction du pois dans une rotation de céréales et colza sur les communautés microbiennes et les adventices

Introduction

Figure 1 Schéma conceptuel de l'effet du pois sur les communautés microbiennes et végétales adventices

Response of microbial communities to crop species and interannual climatic variability at field scale

Figure 1 Boxplots of microbial activities and abundances and N and S net mineralization according to crop

Figure 2 Boxplots of microbial activities and abundances and N and S net mineralization according to sampling date

Figure 3 Multivariate regression tree of the microbial abundances and activities explained by sampling date and crop species

Figure 4 Redundancy analysis of microbial abundances and enzymatic activities in relation to the meteorological factors

Figure 5 Boxplots of microbial activities and abundances and N and S net mineralization according to crop and sampling date

Figure 6 Redundancy analysis correlation biplots of net N and S mineralization over 28 days incubation in relation to the microbial abundances and enzymatic activities

Effet de la composition de la rotation sur l'abondance, la composition et l'activité des communautés microbiennes sous le blé

Figure 1 Analyse en composante principale des variables microbiennes

Figure 2 Courbes de raréfaction des OTU 97% en fonction de la rotation

Figure 3 Abondance relative des phyla et des classes de protéobactéries en fonction de la rotation

Figure 4 Positionnement multidimensionnel non-métrique (NMDS) des communautés microbiennes

Effect of crops species on crop-weeds functional niches overlap and weeds functional traits involved in competition

Figure 1 Boxplots of weed abundance in oilseed rape and pea

Figure 2 Non metric dimensional scaling of weed communities based on species composition

Figure 3 Principal component analysis of weeds functional traits community weighted mean

Figure 4 Overlap between density function representing crop functional traits and weeds functional traits

Résumé du Chapitre 4

Figure 1 Effets des plantes cultivées et du climat sur les communautés microbiennes observés au champ

Figure 2 Effets du pois et du colza sur les communautés d'adventices observés au champ pendant et après leur cycle de développement

Chapitre 5. Discussion générale

Figure 1 Effet du pois sur les communautés microbiennes

Figure 2 Effet du pois sur les communautés d'adventices

Table des tableaux

Chapitre 1. Synthèse bibliographique

Tableau 2.1 Corrélations entre activités enzymatiques et teneur en carbone organique du sol ou biomasse microbienne carboné	25
Tableau 2.2 Corrélations entre l'activité protéase et certaines variables du sol	27
Tableau 2.3 Corrélations entre l'activité arylsulfatase et certaines variables du sol	30
Tableau 2.4 Caractéristiques de trois espèces cultivées	30
Tableau 3.1 Traits fonctionnels impliqués dans l'effet compétitif et la réponse compétitive chez plusieurs espèces.	32
Tableau 3.2 Importance relative des facteurs liés à la culture pour la composition de la communauté d'adventices	
Tableau 4.1 Principales espèces d'adventices du pois de printemps et seuil de nuisibilité de ces espèces dans le blé d'hiver	

Chapitre 2. Matériels et Méthodes

Tableau 1. Caractéristiques du sol en avril 2009 et en avril 2014	
Tableau 2. Dates de prélèvement du sol et stade phénologique des cultures échantillonnées	
Tableau 3. Variables mesurées sur le sol de l'expérimentation au champ	
Tableau 4. Liste des cultures où les adventices ont été échantillonnées	
Tableau 5. Variables mesurées dans le cadre de l'expérimentation en conditions contrôlées	
Tableau 6. Séquence des amorces utilisées pour la quantification des communautés microbiennes par PCR en temps réel	
Tableau 7. Correspondance entre traits fonctionnels et caractéristiques physiologiques des plantes impliquées dans les processus écosystémiques	
Tableau 8. Pourcentage des individus dont les feuilles ont été incluses dans le dosage de CNS, par espèce d'adventice et par culture	

Chapitre 3. Effet du pois et du blé en conditions contrôlées sur certaines communautés microbiennes impliquées dans le cycle de l'azote

Influence of root traits modulating soil bioavailable C and N on ammonification activity along pea development

Appendix B: Table 1 Pea root functional traits, soil enzymatic activities and soil variables at 4 phenological stages	
Appendix C: Table 2 Selection of explanatory variables for RDA	

Combined effects of pea residues and wheat root functional traits on soil protease activity

Table 1 Control soil (C) and soil previously cropped with pea (P) characteristics before planting

Table 2 Average $\pm$ SEM of the soil variables in the 4 soil treatments and along wheat phenology

Table 3 Average $\pm$ SEM of the root functional traits in the 4 soil treatments and along wheat phenology

Chapitre 4. Effet en conditions réelles de l'introduction du pois dans une rotation de céréales et colza sur les communautés microbiennes et les adventices

Response of microbial communities to crop species and interannual climatic variability at field scale

Table 1 Average monthly temperature and monthly precipitations amounts during the three cropping cycles

Table 2 Site characteristics per block

Table 3 Importance of sampling date and crop species for the construction of an univariate regression tree with the microbial abundances and activities as response variables

Table 4 Correlation matrices between meteorological variables and microbial abundances and activities under oilseed rape, barley and dry pea

Effet de la composition de la rotation sur l'abondance, la composition et l'activité des communautés microbiennes sous le blé

Tableau 1 Variables microbiennes sous le blé en fonction de la rotation

Tableau 2 Indices de diversité alpha de la communauté bactérienne totale en fonction de la rotation

Tableau 3 Abondance relative des genres bactériens sous le blé en fonction de la rotation

Effect of crops species on crop-weeds functional niches overlap and weeds functional traits involved in competition

Table 1 Crops functional traits and weed communities functional diversity indices in oilseed rape and pea

Introduction générale

Introduction générale

Au début du 20^{ème} siècle, la seconde révolution industrielle a produit un certain nombre d'innovations techniques qui ont bouleversé l'agriculture européenne (Paarlberg et Paarlberg, 2000 ; Mazoyer et Roudart, 2006). L'exploitation du pétrole et le développement du moteur à combustion interne ont contribué à la mécanisation de l'agriculture. Le développement de l'industrie chimique a permis la synthèse des engrais azotés et, à partir des années 1940, des pesticides organiques. Dans la décennie suivant la fin de la seconde guerre mondiale, cette révolution agricole a gagné rapidement l'ensemble du secteur agricole européen et a eu des effets très positifs sur la productivité agricole.

Cependant ces développements industriels conjugués au développement de la recherche agronomique et du conseil agricole, sous l'impulsion d'états souhaitant atteindre l'autosuffisance alimentaire (Bonneuil et Thomas, 2002 ; Pardey et Pingali, 2010), ont modifié profondément les paradigmes de gestion des agroécosystèmes, et en particulier la gestion de la fertilité du sol et des ennemis des cultures dont les adventices. Ainsi la gestion de la fertilité du sol qui depuis le 18^{ème} siècle était basée sur des rotations diversifiées à base de céréales, légumineuses et plantes sarclées et sur la gestion des matières organiques du sol grâce au fumier (Waksman, 1936 ; Manlay et al., 2007) s'est orienté à partir des années 1940 vers une gestion de minéraux biodisponibles pour les plantes à travers de la fertilisation minérale (Drinkwater et Snapp, 2007) du fait de l'introduction des engrais d'origine chimique.

Pendant cette période, la productivité des plantes cultivées devint donc beaucoup plus dépendante des engrais que de la minéralisation de la matière organique des sols. Dans cette vision de la fertilité, le sol fut alors considéré plutôt comme un support que comme une ressource, les matières organiques et les activités biologiques du sol furent délaissées. Ainsi, la gestion de la fertilité du sol disparue et laissa place à la gestion de la fertilisation, raisonnée à l'échelle du cycle de développement de la culture, tout en considérant les éléments nutritifs indépendamment les uns des autres (Drinkwater et Snapp, 2007).

Concernant les adventices, avant l'avènement de l'industrie phytopharmaceutique, le contrôle de ces bioagresseurs s'effectuait principalement par le travail du sol (labour et hersage) lors des périodes de repos des terres (jachères et inter-cultures) et le désherbage mécanique (sarclage et binage de certaines cultures de la rotation) (Alder et al., 1977 cité par Zimdahl, 2007; Timmons et al., 2005). Le raisonnement des rotations de cultures (alternance de culture annuelles de printemps et d'hiver, prairies temporaires, cultures sarclées) et l'utilisation de variétés cultivées plus compétitives que les variétés actuelles (Cosser et al., 1997) limitaient aussi la pression des adventices dans les systèmes de culture. L'introduction des herbicides de synthèse à partir de 1945 fit de ces molécules le principal

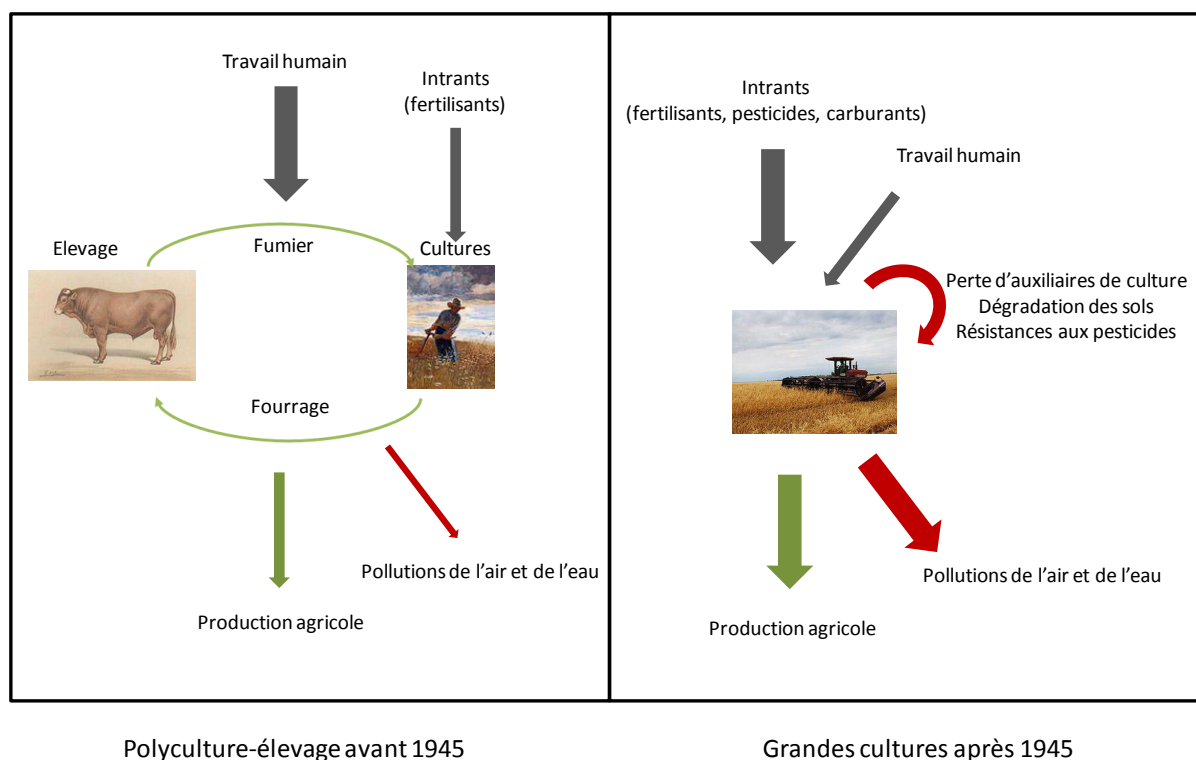


Figure 1. Représentation schématique des systèmes de culture et de leurs externalités avant et après l'intensification du milieu du XXème siècle. En vert, les externalités positives de l'agriculture, en rouge ses externalités négatives

levier utilisé pour le contrôle des adventices. La lutte se résuma à des interventions techniques simples permettant la destruction des adventices au stade plantule, de manière à maintenir leurs populations au-dessous d'un seuil de nuisibilité (Knezevic et al., 2002 ; Marra et Carlson, 1983).

La modification des pratiques de gestion de la fertilité des sols et des adventices, en interaction avec d'autres évolutions techniques (insecticides et fongicides, mécanisation, amélioration génétique des variétés, développement des transports), contribua à réduire la place des systèmes autonomes de polyculture-élevage caractéristiques du début du 20^{ème} siècle au profit de systèmes simplifiés et spécialisés (Mazoyer et Roudart, 2006 ; Papy et Goldringer, 2011), intensifs en intrants et en capitaux, mais peu intensifs en main-d'œuvre (Tirel, 1991) (Figure 1). Cette évolution se traduit notamment par la séparation des ateliers de production végétale et animale sur les exploitations et par une simplification des rotations dans les systèmes de culture. De plus, les orientations de la politique agricole commune (PAC), dès 1962, en favorisant les productions céréalières au détriment des oléo-protéagineux poussèrent les exploitations agricoles à se spécialiser dans les productions les plus rentables. La disparition de l'élevage sur les exploitations conduisit à une diminution des surfaces en prairies et en cultures fourragères notamment à base de légumineuses tandis que les pesticides ont réduisirent l'intérêt de conserver des rotations longues et complexes destinées à contrôler

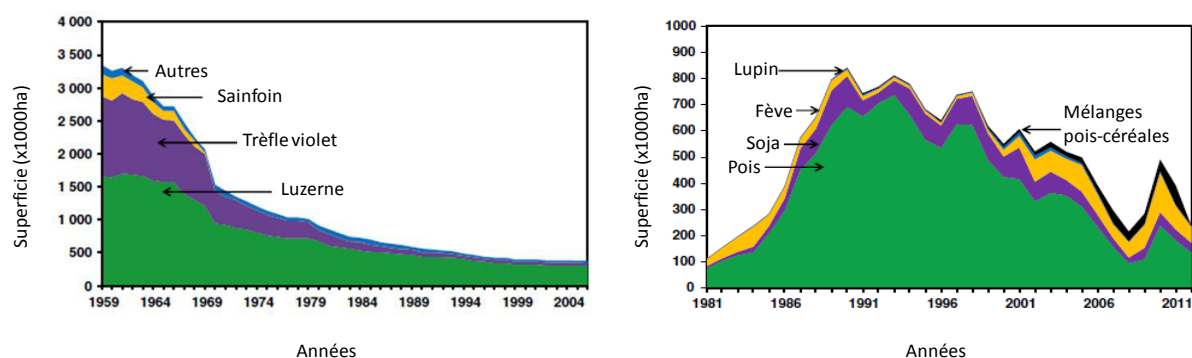


Figure 2. Evolution des surfaces de légumineuses fourragères (à gauche) et de légumineuses à graines (à droite) (modifié d'après Cavaillès, 2009 et Voisin et al., 2013)

naturellement les adventices et agents pathogènes. Ainsi, alors qu'en 1950 la durée des rotations françaises était comprise entre 6 à 12 ans, dont plusieurs années de cultures fourragères (Sourdillat, 1950), en 2012, la rotation colza-blé-orge était la plus pratiquée avec 9% de la Surface Agricole Utile (SAU) nationale. Les rotations de 2 ans et les monocultures couvraient respectivement 15% et 6% de la Surface Agricole Utile (Fuzeau et al., 2012). Sur la même période, les surfaces de légumineuses fourragères étaient divisées par 7. Il faut noter cependant qu'avec 4,5% de la SAU en 2006, les légumineuses à graines occupent à peu près la même surface qu'en 1960 (Voisin et al., 2013) (Figure 2).

Ces évolutions profondes des systèmes de production agricole ont permis, entre 1950 et 2000, une forte augmentation des rendements à l'hectare (d'un facteur 3 à 6 suivant les cultures considérées) et du volume total de la production agricole (multipliée par 2).

Cependant, les pratiques agricoles développées dans ce contexte d'intensification de la production agricole ont eu des conséquences négatives sur les agroécosystèmes (Figure 3). A titre d'exemple, le travail du sol profond combiné à une faible entrée de matières organiques (i.e. effluents d'élevage) dans les régions de grandes cultures sans élevage, entraîna une diminution des teneurs en matières organiques, pilier de la fertilité du sol (Balesdent et al., 2000). En France, les sols des régions de grandes cultures présentent ainsi des teneurs en carbone organique de 40 à 50 T/ha contre 50 à 70 T/ha dans les régions d'élevage (Gis Sol, 2011). Cette diminution des teneurs en matière organique des sols, conjuguée à d'autres pratiques (sol nu en hiver, suppression des haies) accentua le processus d'érosion des sols qui touche 18% des sols français (Gis Sol, 2011) et qui est responsable d'une perte moyenne de 6T de sol/ha/an (Evans et al., 2006). Concernant la gestion des adventices, des résistances aux herbicides sont apparues chez de nombreuses espèces (Walsh, 2007 ; Kleeman et Gill, 2006) suite à l'usage intensif des herbicides. De plus, la simplification des rotations favorisa les espèces adventices présentant des caractéristiques semblables à celles de la culture en terme de cycle de

développement, d'exigences en éléments nutritifs ou de tolérance aux herbicides, compliquant encore la gestion de ces bioagresseurs (Fried et al., 2009, 2010, 2015).

L'utilisation excessive des pesticides, des engrais minéraux et la simplification des rotations ont entraîné une réduction de l'abondance et de la diversité de différents groupes taxonomiques dans les agroécosystèmes (Storkey et al., 2012 ; Fried et al., 2008 ; Benton et al., 2002 ; Donald et al., 2001 ; Wilson et al., 1999 ; Miller et al., 1995). Cet appauvrissement de la biodiversité dans les agroécosystèmes, en particulier au niveau des pollinisateurs, prédateurs d'ennemis des cultures ou symbiontes racinaires (Poehling, 1988 ; Miller et al., 1995 ; Franke et al., 2009 ; Chagnon et al., 2015), pourrait conduire à une diminution des services écosystémiques (définis comme « *the benefits people obtain from ecosystems* » ; Millenium Ecosystem Assesment, 2005) rendus par ces écosystèmes (Björklund et al., 1999). Ces effets négatifs des pratiques agricoles sont à l'origine de pressions

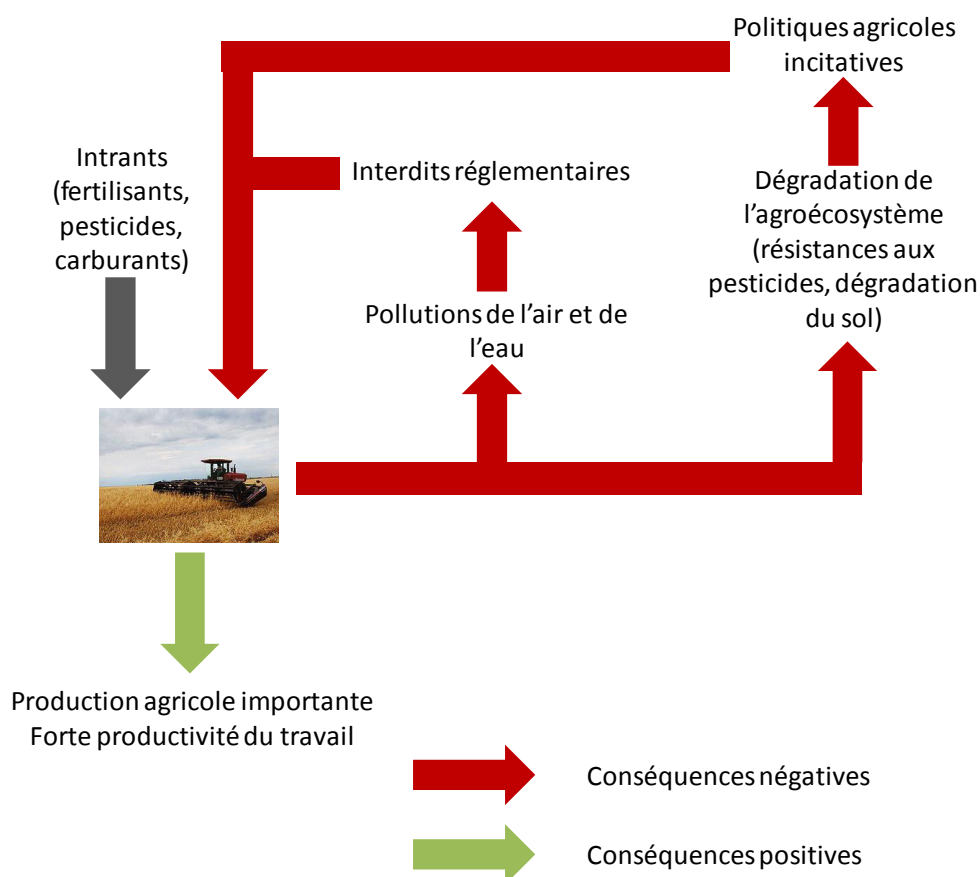


Figure 3. Pressions s'exerçant sur les systèmes de production agricole intensive

réglementaires et économiques qui encouragent actuellement à modifier les systèmes de production agricole (Figure 3). Le plan Ecophyto 2018 (Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, 2008), transposition de la directive européenne 2009/128/CE, et dont l'échéance a été repoussée à 2025 (Potier, 2014), vise ainsi à réduire l'utilisation de pesticides de 50% si possible. De même, la directive Nitrates (Directive 91/676/CEE) vise à réduire les pollutions azotées d'origine agricole et la directive-

cadre sur l'eau (Directive 2000/60/CE) visait un bon état écologique des milieux aquatiques pour 2015. La Loi d'Avenir pour l'Agriculture, l'Alimentation et la Forêt (2014) a introduit un dispositif de « phytopharmacovigilance » pour suivre les effets des pesticides sur l'environnement.

Ces orientations montrent que l'agriculture des pays développés se doit de diminuer ses impacts environnementaux mais tout en maintenant son niveau de production. Pour répondre à ce double enjeu, le monde scientifique propose plusieurs voies d'évolution et/ou d'adaptation des systèmes agricoles, basées sur une meilleure compréhension du fonctionnement écologique des agroécosystèmes. L'une de ces voies, l'intensification écologique (ou agriculture écologiquement intensive), propose d'augmenter la production agricole en augmentant le nombre et l'efficacité des processus et des fonctions écosystémiques dans les agroécosystèmes, afin de pouvoir limiter le recours aux intrants (Chevassus-au-Louis et Griffon, 2008).

Ce concept, développée au CIRAD dans le contexte de l'agriculture vivrière des pays du Sud (CIRAD, 2010), s'est propagé rapidement au sein du monde universitaire et du monde agricole français (Bonny, 2010 ; Goulet, 2012). La notion d'intensification écologique a également été reprise par l'INRA et le CIRAD dans les scénarios de la prospective Agrimonde (Paillard et al., 2010). Les promoteurs de l'intensification écologique mettent l'accent sur l'importance de la diversité biologique, domestique ou sauvage, à tous les niveaux d'organisation biologique (gènes, espèces, écosystèmes), pour maintenir un haut niveau de fonctionnement de l'écosystème (Griffon, 2004 ; Chevassus-au-Louis et Griffon, 2008 ; Schaller, 2013). En effet, une grande partie des processus et fonctions écosystémiques utiles à la production agricole sont réalisées par les organismes présents dans les agroécosystèmes et il existe une généralement une relation positive entre la diversité de ces organismes et le fonctionnement écosystémique (Naeem et Wright, 2003 ; Hooper et al., 2005 ; Thompson et Starzomski, 2007). Par exemple, certains microorganismes des sols sont impliqués dans un ensemble de processus responsables de la décomposition et de la minéralisation de la matière organique. Ces processus conduisent à la libération des minéraux solubles assimilables par les plantes et contribuent ainsi à la fertilité des sols agricoles. Les plantes adventices sont, elles, impliquées dans des processus de compétition avec la culture plus ou moins marqués selon les espèces et qui peuvent conduire *in fine* à des pertes de rendement (Zimdahl, 2007 ; Mézière et al., 2015). Ces deux fonctions écosystémiques, décomposition/minéralisation de la matière organique et compétition adventice/culture dépendent de la structure et de la diversité des communautés, respectivement, microbiennes et adventices. La compréhension des processus impliqués dans les fonctions écosystémiques réalisées par ces deux groupes d'organismes et des facteurs susceptibles de les influencer pourrait représenter une alternative à l'utilisation des engrais minéraux et des herbicides, deux catégories d'intrants soumis à de fortes pressions pour la restriction de leurs usages (Drinkwater et Snapp, 2007 ; Gaba et al., 2014). Ces organismes sont notamment influencés par les conditions du

milieu (climat, type de sol...) (Lauber et al., 2009 ; Fierer, 2009 ; Navas, 2012), les niveaux de ressources (nutriments, eau, espaces vides) et les régimes de perturbations liés aux pratiques agricoles (Dequiedt et al., 2011 ; Gaba et al., 2014). Dans le cadre de l'intensification écologique, la modification des successions de culture a été identifiée comme l'une des pratiques agricoles majeures pour maîtriser les adventices et maintenir la fertilité du sol (Wezel et al., 2014). Les changements de composition des

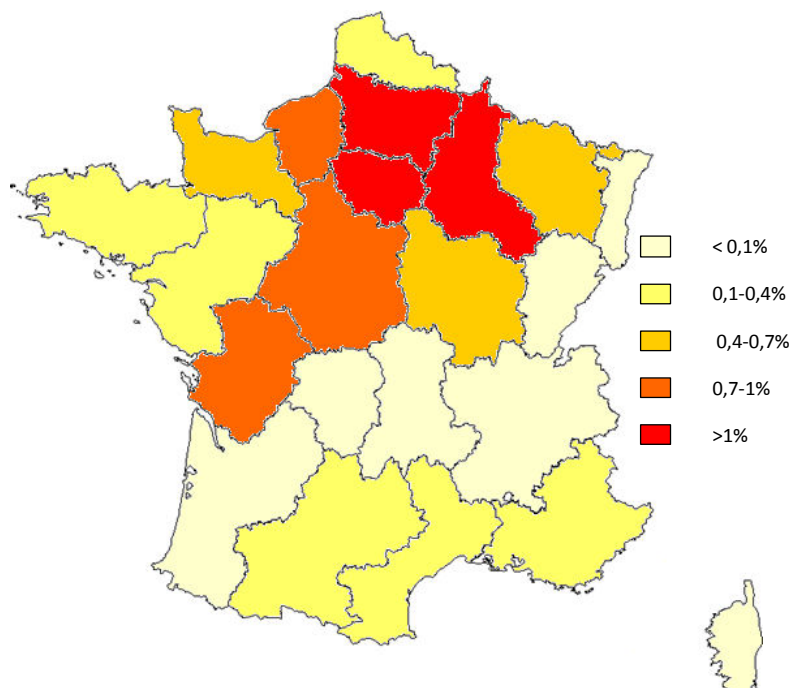


Figure 4. Surfaces cultivées en pois par région en pourcentage de la SAU en 2013 (données : UNIP, 2014)

successions culturales permettent de faire varier d'une année familles chimiques d'herbicides utilisés, type de travail du sol...) et les ressources (alternance des exigences en nutriments et en eau, compétition pour la lumière, composition des résidus de culture ...). De manière générale, l'augmentation du nombre de cultures dans la rotation permet de réduire la pression des adventices (Bertrand et Doré, 2008). Ainsi, en passant de 3 à 4 cultures dans la rotation, la pression des adventices est réduite de plus de 50 % (Dubois, 2007). La diversification de la rotation avec une cinquième culture permet encore de réduire le nombre d'adventices de plus de 40 % (Dubois, 2007). Parmi les possibilités de diversification des successions végétales, un exemple commun est l'introduction de légumineuses annuelles dans les rotations à base de céréales et, en particulier, l'introduction du pois protéagineux (Fuzeau et al., 2012 ; Schaller, 2012). Le pois protéagineux (*Pisum sativum* L.) est la légumineuse à graines la plus cultivée en France, avec 66% des surfaces en légumineuses (Schaller, 2012 ; Agreste, 2014 ; Figure 4). Du fait de la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique, le pois restitue au sol des résidus riches en azote et en soufre et prélève peu d'azote dans le sol, fournissant un reliquat d'azote minéral pour la culture suivante supérieur à celui d'une céréale (Chalk et al., 1993 ; Carrouée et al.,

2012). Cet arrière effet permet ainsi de réduire la fertilisation de la culture suivante (Carrouée et al., 2012) tout en maintenant les stocks de C et de N du sol. Inséré dans les rotations de céréales d'hiver, le pois de printemps introduit de nouvelles perturbations en variant les dates de semis et les familles d'herbicides utilisés. Ceci permet de réduire l'abondance des adventices (Chauvel et al., 2001 ; Vacher et al., 2008 cité par Carrouée et al., 2012) et conduit à une diminution du travail du sol et de la quantités d'herbicides (Carrouée et al., 2012).

L'objectif de la thèse est de comprendre l'effet de l'introduction du pois de printemps dans une rotation triennale à base de cultures d'hiver sur l'abondance et la diversité taxonomique et fonctionnelle des adventices et des microorganismes des sols et sur les fonctions écosystémiques qui leur sont associées : compétition et décomposition, minéralisation de l'azote et du soufre.

Références

- Agreste, 2014. Les rotations des cultures. Agreste Les Dossiers 21, 15–18.
- Balesdent, J., Chenu, C., Balabane, M., 2000. Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. *Soil and Tillage Research* 53, 215–230. doi:10.1016/S0167-1987(99)00107-5
- Benton, T.G., Bryant, D.M., Cole, L., Crick, H.Q.P., 2002. Linking agricultural practice to insect and bird populations: A historical study over three decades. *Journal of Applied Ecology* 39, 673–687. doi:10.1046/j.1365-2664.2002.00745.x
- Bertrand, M., Doré, T., 2008. Comment intégrer la maîtrise de la flore adventice dans le cadre général d'un système de production intégrée ? *Innovations Agronomiques* 3, 1–13.
- Björklund, J., Limburg, K.E., Rydberg, T., 1999. Impact of production intensity on the ability of the agricultural landscape to generate ecosystem services: An example from Sweden. *Ecological Economics* 29, 269–291. doi:10.1016/S0921-8009(99)00014-2
- Bonneuil, C., Thomas, F., 2002. Du maïs hybride aux OGM : Un demi-siècle de génétique et d'amélioration des plantes à l'INRA. Colloque "L'amélioration Des Plantes, Continuités et Ruptures" 1–12.
- Bonny, S., 2010. L'intensification écologique de l'agriculture : voies et défis, in: *Innovation and Sustainable Development in Agriculture and Food Symposium*. Montpellier, pp. 1–11.
- Carrouée, B., Schneider, A., Flénet, F., H Jeuffroy, M., Nemecek, T., 2012. Introduction du pois protéagineux dans des rotations à base de céréales à paille et colza: impacts sur les performances économiques et environnementales. *Innovations Agronomiques* 25, 125–142.
- Cavaillès, E., 2009. la relance des légumineuses dans le cadre d'un plan protéine : quels bénéfices environnementaux ? *Commissariat Général Au Développement Durable - Etudes et Documents* 15, 1–44.
- Chagnon, M., Kreutzweiser, D., Mitchell, E.A.D., Morrissey, C.A., Noome, D.A., Van der Sluijs, J.P., 2015. Risks of large-scale use of systemic insecticides to ecosystem functioning and services. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 119–134. doi:10.1007/s11356-014-3277-x
- Chalk, P.M., Smith, C.J., Hamilton, S.D., Hopmans, P., 1993. Characterization of the N benefit of a grain legume (*Lupinus angustifolius* L.) to a cereal (*Hordeum vulgare* L.) by an in situ ¹⁵N isotope dilution technique. *Biology and Fertility of Soils* 15, 39–44.

- Chauvel, B., Guillemin, J.P., Colbach, N., Gasquez, J., 2001. Evaluation of cropping systems for management of herbicide-resistant populations of blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.). *Crop Protection* 20, 127–137. doi:10.1016/S0261-2194(00)00065-X
- Chevassus au Louis, B., Griffon, M., 2008. La nouvelle modernité : une agriculture productive à haute valeur écologique. *Déméter: Économie et Stratégies Agricoles* 14, 7–48.
- CIRAD, 2010. La nature comme modèle pour une intensification écologique de l'agriculture.
- Cosser, N.D., Gooding, M.J., Thompson, a J., Froud-Williams, R.J., 1997. Competitive ability and tolerance of organically grown wheat cultivars to natural weed infestations. *Annals of Applied Biology* 130, 523–535.
- Dequiedt, S., Saby, N.P.A., Lelievre, M., Jolivet, C., Thioulouse, J., Toutain, B., Arrouays, D., Bispo, A., Lemanceau, P., Ranjard, L., 2011. Biogeographical patterns of soil molecular microbial biomass as influenced by soil characteristics and management. *Global Ecology and Biogeography* 20, 641–652. doi:10.1111/j.1466-8238.2010.00628.x
- Donald, P.F., Green, R.E., Heath, M.F., 2001. Agricultural intensification and the collapse of Europe's farmland bird populations. *Proceedings of the Royal Society Of London Series B-Biological Sciences* 268, 25–29.
- Drinkwater, L.E., Snapp, S.S., 2007. Nutrients in agroecosystems: Rethinking the management paradigm. *Advances in Agronomy* 92, 163–186. doi:10.1016/S0065-2113(04)92003-2
- Dubois, G., 2007. Protéagineux dans la rotation : un effet bénéfique qui ne se limite pas au gain de rendement. *Perspectives Agricoles* 336, 64–66.
- Evans, D.J., Gibson, C.E., Rossell, R.S., 2006. Sediment loads and sources in heavily modified Irish catchments: A move towards informed management strategies. *Geomorphology* 79, 93–113. doi:10.1016/j.geomorph.2005.09.018
- Fierer, N., Strickland, M.S., Liptzin, D., Bradford, M.A., Cleveland, C.C., 2009. Global patterns in belowground communities. *Ecology Letters* 12, 1238–1249. doi:10.1111/j.1461-0248.2009.01360.x
- Franke, A.C., Plotz, L.A., van der Burg, W.J., van Overbeek, L., 2009. The role of arable weed seeds for agroecosystem functioning. *Weed Research* 49, 131–141. doi:10.1111/j.1365-3180.2009.00692.x
- Fried, G., Chauvel, B., Reboud, X., 2015. Weed flora shifts and specialisation in winter oilseed rape in France. *Weed Research* 55, 514–524. doi:10.1111/wre.12164
- Fried, G., Chauvel, B., Reboud, X., 2009. A functional analysis of large-scale temporal shifts from 1970 to 2000 in weed assemblages of sunflower crops in France. *Journal of Vegetation Science* 20, 49–58. doi:10.3170/2008-8-18465
- Fried, G., Norton, L.R., Reboud, X., 2008. Environmental and management factors determining weed species composition and diversity in France. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 128, 68–76. doi:10.1016/j.agee.2008.05.003
- Fried, G., Petit, S., Reboud, X., 2010. A specialist-generalist classification of the arable flora and its response to changes in agricultural practices. *BMC Ecology* 10, 1–11.
- Fuzeau, V., Dubois, G., Théron, O., Allaire, G., 2012. Diversification des cultures dans l'agriculture française - état des lieux et dispositifs d'accompagnement. *Commissariat Général Au Développement Durable - Etudes et Documents* 67, 1–24.
- Gaba, S., Fried, G., Kazakou, E., Chauvel, B., Navas, M.L., 2014. Agroecological weed control using a functional approach: A review of cropping systems diversity. *Agronomy for Sustainable Development* 34, 103–119. doi:10.1007/s13593-013-0166-5
- GIS Sol, 2011. L'état des sols de France. Groupement d'intérêt scientifique sur les sols.
- Goulet, F., 2012. La notion d'intensification écologique et son succès auprès d'un certain monde agricole français : une radiographie critique. *Le Courrier de l'Environnement de l'INRA* 62, 19–30.
- Griffon, M., 2004. La Révolution doublement verte, in: Académie d'Agriculture de France. Séance Du 5 Mai 2004. Paris, France, p. 3.

-
- Hooper, D.U., Chapin, F.S., Ewel, J.J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., Lawton, J.H., Lodge, D.M., Loreau, M., Naeem, S., Schmid, B., Setälä, H., Symstad, A.J., Vandermeer, J., Wardle, D.A., 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: A consensus of current knowledge. *Ecological Monographs* 75, 3–35. doi:10.1890/04-0922
- Kleemann, S.G.L., Gill, G.S., 2006. Differences in the distribution and seed germination behaviour of populations of *Bromus rigidus* and *Bromus diandrus* in South Australia: Adaptations to habitat and implications for weed management. *Australian Journal of Agricultural Research* 57, 213–219. doi:10.1071/AR05200
- Knezevic, S.Z., Evans, S.P., Blankenship, E.E., Van Acker, R.C., Lindquist, J.L., 2002. Critical period for weed control: the concept and data analysis. *Weed Science* 50, 773–786. doi:10.1614/0043-1745(2002)050[0773:CPFWCT]2.0.CO;2
- Lauber, C.L., Hamady, M., Knight, R., Fierer, N., 2009. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Applied and Environmental Microbiology* 75, 5111–5120. doi:10.1128/AEM.00335-09
- Manlay, 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, 217–233. doi:10.1016/j.agee.2006.07.011
- Marra, M.C., Carlson, G.A., 1983. An economic threshold-model for weeds in soybeans (*Glycine max*). *Weed Science* 31, 604–609.
- Mazoyer, P., Roudart, L., 2006. *Histoire des agricultures du monde : Du néolithique à la crise contemporaine*. Seuil, Paris, France.
- Mézière, D., Petit, S., Granger, S., Biju-Duval, L., Colbach, N., 2015. Developing a set of simulation-based indicators to assess harmfulness and contribution to biodiversity of weed communities in cropping systems. *Ecological Indicators* 48, 157–170. doi:10.1016/j.ecolind.2014.07.028
- Millennium Ecosystem Assessment, 2005. *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis*. Island Press, Washington, D.C., Etats-Unis.
- Miller, M.H., McGonigle, T.P., Addy, H.D., 1995. Functional Ecology of Vesicular Arbuscular Mycorrhizas as Influenced by Phosphate Fertilization and Tillage in an Agricultural Ecosystem. *Critical Reviews in Biotechnology* 15, 241–255.
- Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, 2008. *Plan Ecophyto 2018 de réduction des usages de pesticides 2008-2018*. Paris, France, 21p.
- Naeem, S., Wright, J.P., 2003. Disentangling biodiversity effects on ecosystem functioning: deriving solutions to a seemingly insurmountable problem. *Ecology Letters* 6, 567–579.
- Navas, M.-L., 2012. Trait-based approaches to unravelling the assembly of weed communities and their impact on agro-ecosystem functioning. *Weed Research* 52, 479–488. doi:10.1111/j.1365-3180.2012.00941.x
- Paarlberg, D., Paarlberg, P., 2000. *The Agricultural Revolution of the 20th Century*. Iowa State University Press, Ames, USA. doi:10.1002/9780470290170
- Paillard, S., Treyer, S., Dorin, B., 2010. *Agrimonde : scénarios et défis pour nourrir le monde en 2050*. Quae, Versailles, France.
- Papy, F., Goldringer, I., 2011. Cultiver la biodiversité. *Courrier de L'environnement de l'INRA* 60, 55–62.
- Pardey, P.G., Pingali, P.L., 2010. *Reassessing International Agricultural Research for Food and Agriculture*.
- Poehling, H.M., 1988. Control of cereal aphids in winter wheat with reduced dose rates of different insecticides with special respect to side effects to beneficial arthropods., in: Cavalloro, R., Sunderland, K.D. (Eds.), *Integrated Crop Protection in Cereals*. A.A. Balkema, Rotterdam, The Netherlands, pp. 167–170.
- Potier, D., 2014. *Pesticides et agro-écologie. Les Champs du possible. Rapport au Premier Ministre*.
- Schaller, N., 2013. *L'agroécologie : Des définitions variées, des principes communs*. Les Publications Du Service De La Statistique Et De La Prospective - Centre D'études et de Prospective 59, 1–4.

- Schaller, N., 2012. La diversification des assolements en France : intérêts, freins et enjeux. Les Publications Du Service De La Statistique Et De La Prospective - Centre D'études et de Prospective.
- Sourdillat, J.-M., 1950. Géographie agricole de la France. Presses Universitaires de France, Paris, France.
- Storkey, J., Meyer, S., Still, K.S., Leuschner, C., 2012. The impact of agricultural intensification and land-use change on the European arable flora. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279, 1421–1429. doi:10.1098/rspb.2011.1686
- Thompson, R., Starzomski, B.M., 2007. What does biodiversity actually do? A review for managers and policy makers. *Biodiversity and Conservation* 16, 1359–1378. doi:10.1007/s10531-005-6232-9
- Timmons, F.L., 2005. A history of weed control in the United States and Canada — a sequel. *Weed Science* 53, 762–768. doi:10.1614/WS-04-210.1
- Tirel, J.-C., 1991. L'extensification : Chance ou défi pour les exploitations agricoles? *INRA Productions Animales* 4, 5–12.
- Voisin, A.S., Guéguen, J., Huyghe, C., Jeuffroy, M.H., Magrini, M.B., Meynard, J.M., Mougél, C., Pellerin, S., Pelzer, E., 2013. Legumes for feed, food, biomaterials and bioenergy in Europe: A review. *Agronomy for Sustainable Development* 34, 361–380. doi:10.1007/s13593-013-0189-y
- Waksman, S.A., 1936. Humus. Origin, chemical composition, and importance in nature. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, USA.
- Walsh, M.J., Owen, M.J., Powles, S.B., 2007. Frequency and distribution of herbicide resistance in *Raphanus raphanistrum* populations randomly collected across the Western Australian wheatbelt. *WEED RESEARCH* 47, 542–550. doi:10.1111/j.1365-3180.2007.00593.x
- Wezel, A., Casagrande, M., Celette, F., Vian, J.F., Ferrer, A., Peigné, J., 2014. Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 34, 1–20. doi:10.1007/s13593-013-0180-7
- Wilson, J.D., Morris, A.J., Arroyo, B.E., Clark, S.C., Bradbury, R.B., 1999. A review of the abundance and diversity of invertebrate and plant foods of granivorous birds in northern Europe in relation to agricultural change. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 75, 13–30. doi:10.1016/S0167-8809(99)00064-X
- Zimdahl, R.L., 2007. Fundamentals of weed science. Elsevier, Amsterdam, Pays-Bas. doi:10.1016/0378-4290(95)90065-9

Chapitre 1. Synthèse bibliographique

1. Les communautés d'organismes, effecteurs des fonctions écosystémiques

Les communautés d'organismes des agroécosystèmes réalisent un ensemble de fonctions écosystémiques. Si le terme « fonction écosystémique » est souvent utilisé en écologie, sa signification est souvent ambiguë du fait des nombreuses définitions qu'il peut prendre (Jax, 2005). Dans ce travail, nous considérons une fonction écosystémique comme la résultante complexe de processus (Jax, 2005), mesurable par une valeur unique. En nous inspirant des définitions de processus données par la norme ISO 9000 et par Dominati et al. (2010), nous définissons un processus écosystémique comme toute transformation ou transfert mesurable par un taux (quantité par unité de temps). Appliquée à la communauté végétale adventice, la compétition vis-à-vis de la culture est une fonction : elle est mesurable par une valeur unique (la perte de rendement) mais elle résulte d'une infinité de processus (absorption d'azote, absorption d'eau, assimilation photosynthétique...) (Figure 1.1). De même, la minéralisation de l'azote ou du soufre est une fonction écosystémique portée par les communautés microbiennes du sol et mesurée par la production de C ou de N minéral. Cette fonction est la résultante des différentes activités enzymatiques impliquées dans la dégradation des formes organiques de N/S et dans l'absorption de ces nutriments par les microorganismes (processus écosystémiques) (Figure 1.1). Dans ce cadre le « fonctionnement de l'écosystème » fait simplement référence aux valeurs prises par les différentes fonctions écosystémiques.

Il est généralement accepté qu'il existe des relations, positives ou négatives, entre biodiversité et fonctionnement des écosystèmes.

La diversité biologique présente trois niveaux d'organisation : la diversité des écosystèmes, la diversité spécifique et la diversité génétique. Historiquement, les approches de diversité taxonomique basées sur l'identification des espèces présentes (richesse spécifique et abondance) ont été les premières utilisées pour expliquer le fonctionnement écosystémique. Sur 51 études analysées par Thompson et Starzomski (2007), 29 observent une relation positive entre diversité taxonomique et fonction écosystémique (production de biomasse, prédation, décomposition...). Quatre de ces études mettent en évidence une relation négative et 18 aucune de relation. Bien que ces études soient biaisées par une surreprésentation des prairies parmi les écosystèmes étudiés et de la production primaire parmi les fonctions écosystémiques (Balvanera et al., 2006), elles soulignent qu'il n'existe pas de relation universelle entre diversité taxonomique et fonctionnement de l'écosystème. En réalité, le fonctionnement d'un écosystème serait plus susceptible de dépendre de la diversité fonctionnelle que de la diversité taxonomique (Naeem et Wright, 2003 ; Hooper et al., 2005 ; Reiss et al., 2009). La diversité fonctionnelle est la diversité des traits fonctionnels (Tilman, 2001). Un trait fonctionnel est défini comme « *any morphological, physiological or phenological feature measurable at the individual*

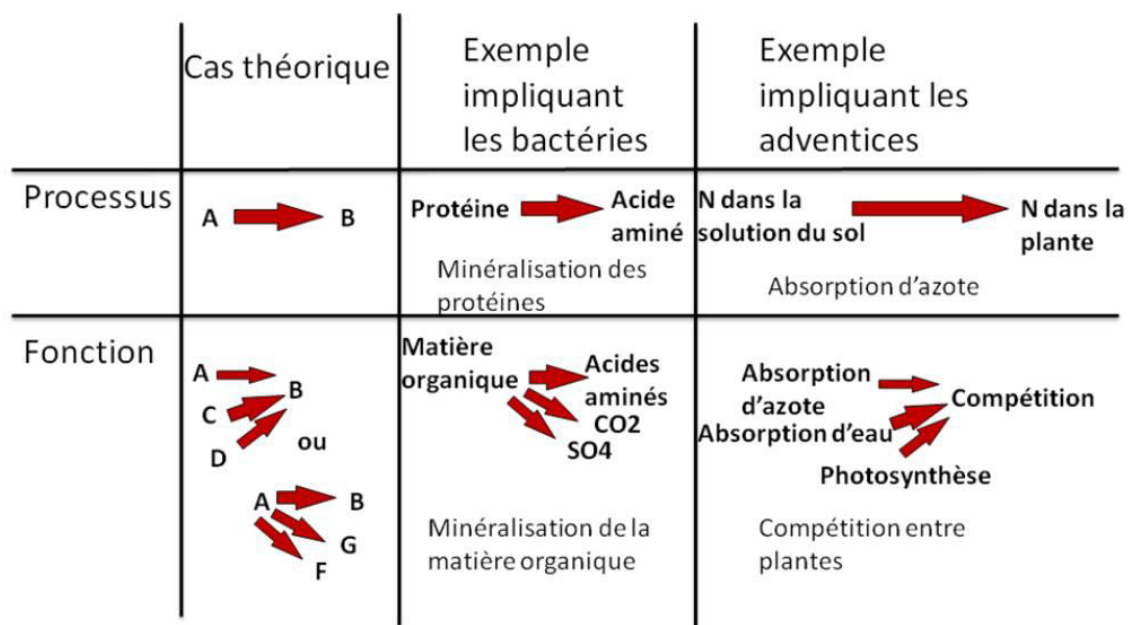


Figure 1.1 Exemples de processus et de fonctions écosystémiques

level, from the cell to the whole-organism level, without reference to the environment or any other level of organisation » (Violle et al. 2007) qui conditionne la performance (survie, croissance, reproduction) d'un organisme dans l'écosystème (Violle et al. 2007). Si initialement le concept de trait fonctionnel a surtout été développé en écologie végétale (Violle et al., 2007), il se décline actuellement pour d'autres taxons, dont les microorganismes (par exemple, Fierer et al., 2014). Ainsi, la capacité des bactéries à minéraliser ou non certaines classes de molécules organiques (esters de sulfate, peptides...) est un trait fonctionnel qui peut modifier la disponibilité en nutriments minéraux. La capacité des adventices à acquérir des ressources plus ou moins vite est un autre trait fonctionnel qui va modifier la croissance du peuplement de plantes cultivées.

La composition fonctionnelle des communautés végétales et microbiennes, susceptible d'évoluer selon différents facteurs biotiques et/ou abiotiques, va influencer le fonctionnement de l'écosystème. Dans les agroécosystèmes, les communautés végétales et microbiennes sont soumises à de fréquentes perturbations, conséquences des pratiques agricoles, qui détruisent des organismes et/ou des habitats, et modifient les disponibilités en ressources. Les communautés végétales et microbiennes se reconstituent à partir de banques d'individus dormants présentes dans le sol (Forcella et al., 1992 ; Kaprelyants et al., 1993 ; Aanderud et al., 2015) ou à partir de pluies de propagules provenant des écosystèmes adjacents (Webster et al., 2003 ; Gonzalez-Martin et al., 2014) (Figure 1.2). La capacité des organismes à pénétrer, germer, croître et se reproduire dans l'agroécosystème dépend de l'adéquation entre leurs traits fonctionnels et la disponibilité en ressources et le régime de

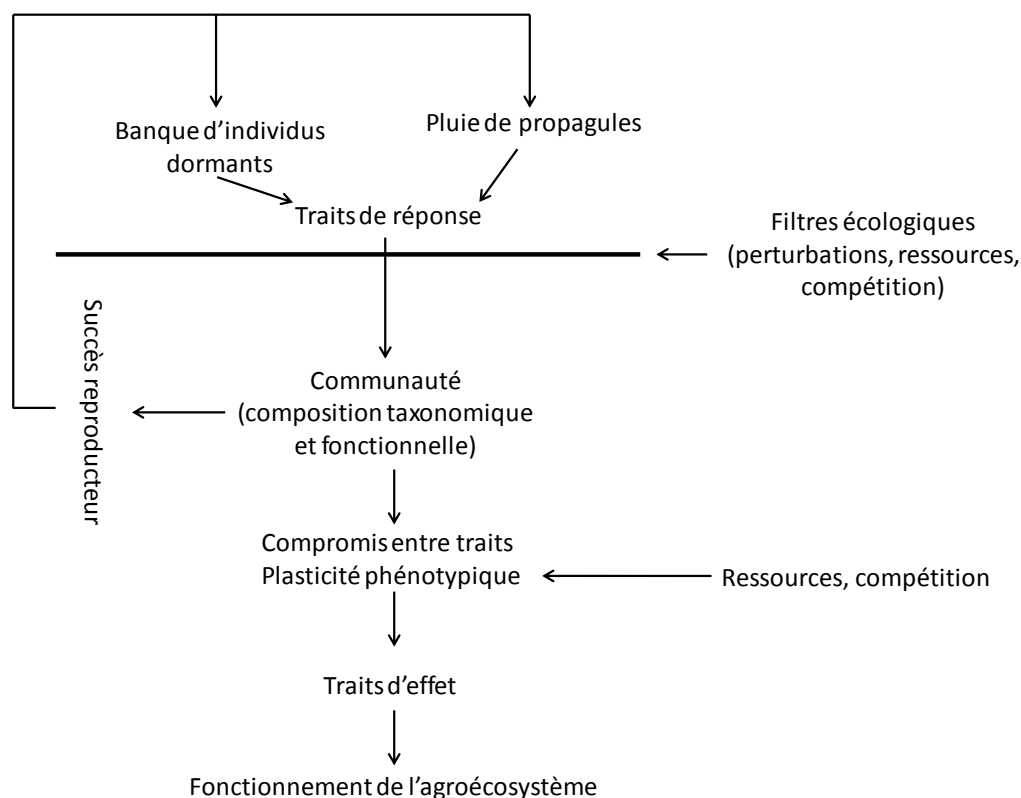


Figure 1.2 Interactions entre filtres environnementaux, traits fonctionnels et fonctionnement de l'agroécosystème.

perturbations de l'agroécosystème, qui agissent comme des filtres écologiques (Ryan et al., 2010 ; Gaba et al., 2014 ; Pickles et al., 2015 ; Ranjan et al., 2015). Par exemple, dans un champ labouré en sortie d'hiver, seules les adventices germant au printemps pourront s'installer. De même, les microorganismes capables de dégrader rapidement le carbone soluble se développeront préférentiellement sur les résidus de culture fraîchement enfouis (Pascault et al., 2010, 2013 ; Ramirez-Villanueva et al., 2015).

Les différents traits fonctionnels portés par les organismes ne sont pas totalement indépendants les uns des autres en raison de compromis entre traits (Lavorel et Garnier, 2002 ; Reich et al., 2003 ; Figure 1.2). Les organismes présentent également une plasticité phénotypique leur permettant de modifier leur morphologie et/ou leur métabolisme pour répondre à la disponibilité en ressources (Griffith et Sultan, 2012 ; Godoy et al., 2012 ; Behm et Kiers, 2014) et aux perturbations (Maire et al., 2013).

2. Les microorganismes des sols

2.1 Abondance et diversité des communautés microbiennes

La biomasse microbienne dans les sols agricoles varie entre 43 et 2000 milligrammes de carbone, entre 7 et 137 milligrammes d'azote par kilogramme de sol, avec une moyenne de 365 milligrammes de

carbone et de 44 milligrammes d'azote par kilogramme de sol (Kallenbach et Grandy, 2011). La biomasse microbienne soufrée, moins souvent mesurée, varie entre 0,1 et 20 milligrammes de S par kilogramme de sol (Banerjee et Chapman, 1996 ; Chowdhury et al., 2000 ; Vong et al., 2003). La biomasse microbienne représente ainsi 1 à 3% du carbone organique du sol (Serna-Chavez et al., 2013), 3 à 7% de l'azote du sol (Vong et al., 1990) et 1 à 3% du soufre du sol (Saggar et al., 1981). Les bactéries sont 25 à 50 fois plus abondantes que les champignons dans les sols agricoles (Lauber et al., 2008). Les phyla bactériens dominants sont les Proteobacteria, Acidobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes et Verrucomicrobia (Janssen, 2006 ; Xuan et al., 2012 ; Portillo et al., 2013 ; Navarro-Noya et al., 2013) tandis que les phyla fongiques dominants appartiennent principalement aux Ascomycètes (Lauber et al., 2008 ; Klaubauf et al., 2010 ; Rousk et al., 2010 ; Viebahn et al., 2005 ; Vujanovic et al., 2007). En dépit de difficultés conceptuelles et techniques, liées à la complexité de la définition d'espèce chez les microorganismes (Ereshefsky et al., 2010) et aux difficultés pour les cultiver ou séquencer leurs génomes (Donachie et al., 2007 ; Bent et Forney, 2008 ; Bell et al., 2009), la diversité microbienne dans les sols est considérée comme très élevée. Navarro-Noya et al. (2013) observent ainsi plus de 3 000 « unités taxonomiques opérationnelles » (OTU) bactériennes dans 3 grammes de sol et estiment la richesse totale à environ 10 000 OTU. La diversité fongique semble beaucoup plus faible avec des richesses allant de 20 à 100 OTU par gramme de sol (Fitter et al., 2005 ; Klaubauf et al., 2010). Néanmoins, la richesse taxonomique semble largement sous-estimée, notamment parce que certains groupes taxonomiques restent difficiles à isoler et à dénombrer (Ludley et Robinson, 2008).

Cependant, l'abondance relative des « espèces » microbiennes dans les sols est très inéquitable. Ainsi, certaines « espèces » sont considérées comme des espèces rares car elles représentent moins de 1% des individus de la communauté. Ces espèces rares qui peuvent représenter jusqu'à 37% des bactéries du sol (Elshahed et al., 2008) pourraient cependant jouer un rôle important dans le fonctionnement de l'écosystème (Ashby et al., 2007).

La grande majorité des microorganismes du sol sont hétérotrophes pour le carbone. Ces microorganismes peuvent, du fait d'une diversité fonctionnelle importante, utiliser une grande diversité de molécules organiques plus ou moins complexes, *via* la synthèse d'enzymes capables d'hydrolyser ces molécules (Nannipieri et al., 2003 ; Caldwell, 2005). Actuellement, la caractérisation de la diversité fonctionnelle des communautés microbiennes est particulièrement difficile du fait de verrous techniques (Larsen et al., 2012 ; Fierer et al., 2014 ; Koide et al., 2014). Néanmoins, il est généralement considéré qu'il existe deux grands groupes fonctionnels chez les bactéries par rapport à l'utilisation des sources de carbone et correspondant à deux stratégies écologiques (Fierer et al., 2007). Ainsi, les bactéries copiotrophes (stratégie de type *r* ; MacArthur et Wilson 1967) utilisent préférentiellement des molécules organiques simples et ont un fort taux de croissance mais exigent

un milieu riche en nutriments. Les bactéries oligotrophes (stratégie de type K) utilisent quant à elles des substrats organiques complexes et peu labiles, présentent un faible taux de croissance et se développent sur des milieux pauvres en nutriments.

La description des communautés bactériennes copiotrophes et oligotrophes n'est pas totalement indépendante de la taxonomie. En se basant sur des corrélations entre abondance de différents phyla et disponibilité en carbone dans le sol (Fierer et al., 2007) ou sur leur vitesse de croissance sur milieu de culture (Davis et al., 2011), il est possible de constater que les Acidobacteria et les Chloroflexi sont généralement oligotrophes tandis que les β -Proteobacteria et les Bacteroidetes sont plutôt copiotrophes (Fierer et al., 2007 ; Davis et al., 2011).

2.2 Les facteurs influençant l'abondance et la diversité des communautés microbiennes

Plusieurs facteurs peuvent influencer la taille du compartiment microbien dans les sols. Le premier de ces facteurs est l'humidité du sol à laquelle la biomasse microbienne est corrélée positivement (Serna-Chavez et al., 2013 ; Franzluebbers et al., 2001). La biomasse microbienne (biomasse microbienne carbonée ou biomasse moléculaire) est également positivement corrélée avec la teneur en argiles ou en limons fins, le pH, la capacité d'échange cationique et la teneur en matière organique (particulièrement la matière organique facilement dégradable) et négativement corrélée avec le C/N (Murphy, 2011 ; Gunapala et al., 1998 ; Wardle, 1998 ; Dequiedt et al., 2011).

La composition taxonomique de la communauté microbienne varie également en fonction de ces facteurs. Le ratio bactéries/champignons dans les sols varie notamment selon le C/N du sol auquel il est positivement corrélé (Fierer et al., 2009). La composition taxonomique de la communauté bactérienne est fortement influencée par le pH (Fierer et Jackson, 2006 ; Lauber et al., 2008, 2009 ; Fierer et al., 2009) et l'humidité (Lauber et al., 2009) du sol. La diversité taxonomique bactérienne est notamment maximale dans une zone de pH autour de 6,5-7 (Fierer et Jackson, 2006 ; Lauber et al., 2009). Si l'abondance de certains phyla bactériens (Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes) est significativement corrélée au pH du sol, l'abondance des Proteobacteria ne semble pas influencée par ce facteur (Lauber et al., 2009). Pour la composante fongique, les facteurs qui influencent la composition taxonomique sont le C/N et la teneur en P du sol (Lauber et al. 2008). La diversité fongique est également positivement corrélée à l'humidité, au pH et de la teneur en Ca du sol (Tedersoo et al., 2014 ; Gange, 2000).

Du point de vue fonctionnel, l'abondance de microorganismes oligotrophes relativement aux microorganismes copiotrophes est influencée par la qualité des matières organiques du sol et

notamment par leur ratio C/Nutriments et par la labilité des composés organiques (Zechmeister-Boltenstern et al., 2015). Pascault et al. (2010, 2013) ont ainsi montré, qu'après introduction de matière organique fraîche dans le sol, les communautés microbiennes sont d'abord dominées par des organismes copiotrophes. Puis, lorsque les composés les plus facilement assimilables sont épuisés, les communautés microbiennes oligotrophes succèdent aux communautés copiotrophes (Fontaine et al., 2003 ; Fierer et al., 2007).

2.3 La décomposition et la minéralisation de la matière organique : une fonction écosystémique contrôlée par les microorganismes

Les microorganismes sont responsables de 80 à 85% de la décomposition de la matière organique (Wolters, 2000). En effet, les microorganismes n'assimilant que des éléments minéraux et des composés organiques solubles (Kredich, 1996 in Kertesz, 1999 ; Farrell et al., 2013 ; Hill et al., 2012) synthétisent des enzymes qui hydrolysent ou oxydent la matière organique complexe des sols. Cette dégradation enzymatique de la matière organique est l'un des principaux facteurs contrôlant sa décomposition (Sinsabaugh, 1994 ; Schimel et Weintraub, 2003). Les protéases, les cellulases et les ligninases sont considérées comme les principales enzymes microbiennes impliquées dans la décomposition des matières organiques (Schimel et Weintraub, 2003). Les molécules organiques simples (peptides, acides aminés, oligo/monosaccharides...) ainsi libérées peuvent être ensuite hydrolysées par d'autres enzymes microbiennes (peptidases, arylsulfatases...) pouvant contribuer à la libération d'éléments minéraux potentiellement disponibles pour la croissance des plantes.

Cependant, les microorganismes prélèvent également une partie des éléments minéraux libérés pour répondre à leurs besoins de croissance (fonction d'immobilisation ou d'organisation microbienne). Sachant que les fonctions de minéralisation et d'immobilisation se produisent conjointement dans les sols, il en résulte une balance entre minéralisation et immobilisation qui conduit à des situations soit de minéralisation nette, soit d'immobilisation nette dans les sols. Ainsi, l'ensemble des fonctions portées par les communautés microbiennes par rapport à la dynamique des éléments traduit le rôle majeur de la biomasse microbienne dans les cycles biogéochimiques des éléments présents dans les sols (Figure 2.1) et, de ce fait, dans la fertilité minérale du sol.

2.3.1 Azote et soufre, deux éléments indispensables pour la croissance des plantes cultivées

Les plantes absorbent les éléments essentiels à leur croissance principalement sous forme minérale *via* le système racinaire. Les plantes sont également capables d'absorber des molécules organiques solubles. Cependant dans l'état actuel des connaissances, leur contribution à la nutrition de la plante

est anecdotique, notamment en raison d'une plus grande compétitivité des microorganismes pour ces formes (Seegmuller et Rennenberg, 2002 ; Hill et al., 2011, 2013 ; Jones et al., 2013). L'azote est le principal facteur limitant la croissance des plantes non fixatrices. Dans le cas de certaines cultures (notamment les Brassicacées et les Légumineuses) caractérisées par de fortes exigences en soufre, une limitation par ce second élément peut apparaître. Il faut remarquer que les limitations en S sont susceptibles d'occasionner des diminutions de l'assimilation de N par la plante (Scherer et al., 2006 ; Jamal et al., 2010) et le ratio N/S des sols est susceptible d'influencer le rendement de la culture

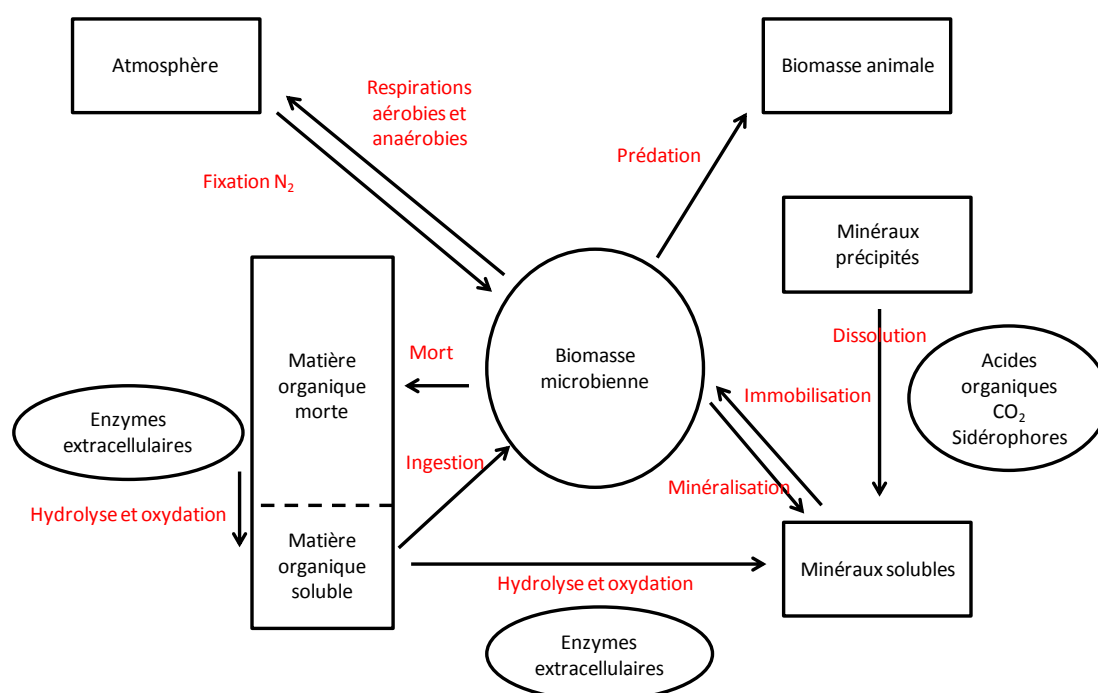


Figure 2.1. Les microorganismes au cœur des cycles biogéochimiques dans les sols. Les boîtes représentent les stocks et les flèches les flux de matière. Les noms des processus sont indiqués en rouge. Les cercles représentent la biomasse microbienne et ses dérivés (enzymes extracellulaires, acides organiques, sidérophores)

(Jamal et al., 2010). La disponibilité en N et S dans le sol influencent également la qualité de la récolte, la teneur en protéine soufrées influençant par exemple les propriétés rhéologiques des farines de blé (Zhao et al., 1997).

Si l'azote et le soufre sont essentiels pour les végétaux, la majeure partie des composés soufrés et azotés sont stockés dans les sols sous des formes organiques, non directement disponibles pour les organismes supérieurs (Fitzgerald, 1978). Soixante-dix à 90% de l'azote total du sol est présent dans la matière organique morte et 3 à 7% dans la biomasse microbienne, majoritairement sous forme de protéines et d'acides aminés (40% en moyenne de l'azote organique du sol) (Jones et al., 2005 ; Vong

et al., 1990 ; Schulten et Schnitzer, 1998). Concernant le soufre, 90 à 95% du soufre dans les sols est contenu dans la matière organique morte et 1 à 3% dans la biomasse microbienne (Tabatabai, 1984 ; Sagggar et al., 1981). Les principales formes de soufre organique dans les sols sont les esters de sulfates (C-O-S) qui représentent de 27 à 78% du soufre organique (Bettany et Stewart, 1983). La matière organique constitue donc une réserve majeure d'azote et de soufre dans les sols.

2.3.2 Deux familles d'enzymes microbiennes importantes pour la décomposition et la minéralisation : les protéases et les arylsulfatases

Deux familles d'enzymes, les protéases (EC 3.4) et les arylsulfatases (EC 3.1.6.1), jouent un rôle important dans les cycles de l'azote et du soufre en participant à la décomposition/minéralisation des molécules organiques azotées et soufrées. Ces enzymes sont considérées comme des indicateurs de la réponse des sols aux pratiques agricoles et, dans le cas des arylsulfatases, entrent dans le calcul de plusieurs indicateurs composites (Giacometti et al., 2013 ; Gispert et al., 2013 ; Alvaro-Fuentes et al., 2013 ; Blecker et al., 2013 ; Castro Lopes et al., 2012 ; Marinari et al., 2013 ; Paz-Ferreiro et al., 2014 ; Puglisi et al., 2006 ; Stursova et al., 2006).

Les protéases dégradent les protéines et peptides, principales formes d'azote organique du sol (Jones et al., 2005), en acides aminés. D'un point de vue général, il est possible de distinguer deux types de protéases. Les endoprotéases hydrolysent les liaisons peptidiques internes dans les chaînes protéiques tandis que les exopeptidases hydrolysent les liaisons peptidiques des acides aminés en N et C terminal des protéines (Rao et al., 1998 ; Kalisz, 1988). Les protéases sont classées selon les acides aminés constituant leur site catalytique, le pH auquel elles sont actives, leur besoin en cofacteur métallique et leur homologie de séquences en acides aminés (Callis 1995 ; Gupta et al., 2002 ; Rao et al., 1998).

Dans les sols, plusieurs classes d'endoprotéases microbiennes ont été caractérisées. Ce sont essentiellement des métallo-endoprotéases (EC 3.4.24), neutres ou alcalines, et des endoprotéases à sérine alcalines (EC 3.4.21) (Bach et Munch, 2000 ; Hayano et al., 1987). Les métallo-protéases neutres ont un pH optimal d'activité compris entre 5 et 8 et une plus forte affinité pour les acides aminés hydrophobes alors que les métallo-protéases alcalines ont un pH optimal d'activité compris entre 7 et 10 et une gamme de substrats très large. Les métallo-endoprotéases requièrent toutes soit un, soit 2 cations divalents (Zn, Cu, Ni, Mg...) pour être actives. La plupart de ces métallo-endoprotéases microbiennes sont extracellulaires (Wu et Chen, 2011). Les protéases à sérine alcalines ont un pH optimal d'activité variant de 7 à 11 et une large gamme de substrats. Au sein de cette classe d'enzymes, les protéases à sérine de type subtilisine sont les mieux caractérisées. Ces enzymes ont un pH optimal d'activité de 10 et une affinité plus forte pour les acides aminés hydrophobes et aromatiques (Kalisz,

1988). Ces enzymes sont généralement d'origine bactérienne et sécrétées dans le milieu extracellulaire.

Les protéases microbiennes extracellulaires, principalement d'origine bactérienne (Sakurai et al., 2007 ; Watanabe, 2009 ; Hofmockel et al., 2010 ; Geisseler et al., 2012) réalisent une étape généralement considérée comme limitante pour la minéralisation de N (Jan et al., 2009). L'activité protéase est fréquemment corrélée positivement à la minéralisation brute de N (Zaman et al., 1999 ; Mishra et al., 2005 ; Yuan et al., 2011).

L'activité protéase, généralement mesurée en utilisant la caséine comme substrat modèle, varie entre 30 et 300 µg de tyrosine libérée par heure par gramme de sol sec (Asmar et al., 1992 ; Badalucco et al., 1996 ; Alvaro-Fuentes et al., 2013 ; Giacometti et al., 2013).

Il existe actuellement peu d'informations sur l'identité des bactéries responsables de la synthèse des protéases des sols. La communauté cultivable de bactéries protéolytiques, est dominée par *Pseudomonas fluorescens* (Bach et Munch, 2000). Les bactéries appartenant au genre *Bacillus* ou au groupe *Flavobacterium-Cytophaga* sont également bien représentées (Bach et Munch, 2000). Les gènes *apr* codant des métalloprotéases alcalines des sols sont généralement proches des gènes de *Pseudomonas fluorescens*, les gènes *npr* codant les métalloprotéases neutres proches des gènes de *Bacillus* (Sakurai et al., 2007 ; Bach et al., 1999). Mrkonjic Fuka et al. (2009) trouvent cependant une majorité de séquences de métalloprotéases neutres d'origine inconnue. Les subtilisines, codées par les gènes *sub*, sont généralement produites par les *Bacillus* (Rao et al., 1998 ; Bach et al., 2001). Les *Flavobacterium* peuvent également produire des subtilisines et des métalloprotéases neutres ou alcalines (Bach et al., 2001 ; Chevalliers et al., 1992 ; Tarentino et al., 1995).

Les protéases fongiques, autre composante des protéases des sols, ont une large gamme de substrats et de pH (de 4 à 11) mais une vitesse de réaction plus faible que les protéases bactériennes (Rao et al., 1998). Des endoprotéases à sérine alcalines ainsi que des métalloprotéases alcalines ont été caractérisés chez différents genres fongiques dont les genres *Aspergillus* et *Neurospora* alors que des endoprotéases à aspartate acides ont été identifiés chez des isolats affiliés aux genres les genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Neurospora*, *Endothia* et *Mucor* (Rao et al., 1998).

Concernant la dynamique du soufre dans les sols agricoles, la principale enzyme décrite et étudiée est l'arylsulfatase (arylsulfate sulphohydrolase, EC 3.1.6.1) qui catalyse l'hydrolyse des esters de sulfate aromatiques en SO_4^{2-} , en clivant la liaison O-S (Fitzgerald, 1978). Les esters de sulfate constituent la principale forme de soufre organique dans les sols agricoles (Scherer, 2001 ; Solomon et al., 2011 ; Bettany et Stewart, 1983). L'arylsulfatase est une des enzymes clefs du cycle du soufre considérée comme un indicateur de la minéralisation des esters de sulfate et du statut nutritionnel des microorganismes (Goodwin et al., 2000). Son activité est positivement corrélée à l'immobilisation

brute de soufre par les microorganismes (Dedourge et al., 2003 ; Vong et al., 2003 ; Vong et al., 2008) et au prélèvement de soufre par les plantes (Vong et al., 2002 ; Legay et al., 2014). Le large spectre d'activité de cette enzyme lui permet d'hydrolyser des composés aromatiques soufrés standards tels le *p*-nitrophényl sulfate ou le nitrocatéchol sulfate qui sont des substrats artificiels utilisés au laboratoire pour la mesure de cette activité enzymatique potentielle (Tabatabai et Bremner, 1970). Toutefois, le substrat naturel de cette enzyme, dans les sols, semble être assez éloigné de ces composés aromatiques puisque les arylsulfatases hydrolysent également des esters de sulfate aliphatiques et des glucosulfates (Fitzgerald, 1978 ; Nicholls et Roy, 1971 ; Kertesz, 1999). Il existe deux groupes d'arylsulfatases en fonction du pH. Les arylsulfatases acides ont un pH optimum compris entre 6,5 et 7,1 tandis que les arylsulfatases alcalines ont un pH optimum compris entre 8,3 et 9 (Fitzgerald et Milazzo, 1970 ; Deslile et Milazzo, 1970). Chez les bactéries, les arylsulfatases peuvent être intracellulaires, périplasmiques ou membranaires (Muller et Schmidt, 1986 ; Long et al., 2011 ; Cregut et al., 2013) alors que chez les champignons, cette activité peut être intracellulaire ou extracellulaire (Marzluf 1997 ; Hamdan 2010). Une même bactérie peut posséder plusieurs arylsulfatases ayant des localisations cellulaires et des pH optimum différents (Cregut et al., 2013). La température optimale d'activité de l'enzyme purifiée à partir de souches bactériennes varie entre 37 et 57°C suivant les microorganismes (Beil et al., 1995 ; Deslile et Milazzo, 1972 ; Jung et al., 2012). L'optimum de l'activité mesurée dans le sol se trouve autour de 57-58°C (Elsgaard et Vinther, 2004 ; Trasar-Cepeda et al., 2007).

L'activité des arylsulfatases dans les sols agricoles, mesurée avec le substrat modèle *p*-nitrophényl sulfate, varie entre 5 et 125 µg de *p*-nitrophénol libéré par heure par gramme de sol sec avec une moyenne de 44 µg par gramme de sol et par heure (Baligar et al., 1999 ; Vanegas et al., 2013 ; Gajda et al., 2013 ; Ajwa et al., 1999 ; Lemanowicz et al., 2014 ; Perucci et al., 1984 ; Castro Lopes et al., 2012 ; Legay et al., 2014 ; , Cregut et al., 2009 ; Dedourge et al., 2004 ; Vong et al., 2003). En règle générale, dans les sols, 45% de l'activité arylsulfatase totale est extracellulaire et 55% est associée aux corps microbiens et correspond à la composante intracellulaire/périplasmique et membranaire de cette activité (Klose et Tabatabai, 1999). Les microorganismes capables de produire cette activité ont été isolés de différents sols et caractérisés notamment dans la rhizosphère (Cregut et al., 2009 ; Slezack-Deschaumes et al., 2012). La communauté bactérienne possédant l'activité arylsulfatase est dominée par des isolats affiliés aux Actinobacteria, α -Proteobacteria et γ -Proteobacteria (Cregut et al., 2009 ; Slezack-Deschaumes et al., 2012) tandis que la communauté fongique possédant l'activité arylsulfatase est dominée par des Ascomycètes appartenant aux genres *Eupenicillium* et *Trichoderma* (Slezack-Deschaumes et al., 2012).

2.4 Régulation des activités microbiennes impliquées dans la décomposition et la minéralisation de la matière organique

2.4.1 Stœchiométrie et régulation de la balance minéralisation/immobilisation

Les organismes vivants sont contraints par la stœchiométrie de leur propre biomasse, c'est-à-dire les ratios entre leurs différents constituants : C/N/P/S... (Cleveland et Liptzin, 2007). Les communautés microbiennes du sol présentent des stœchiométries en éléments très variables. Les bactéries ont ainsi un C/N compris entre 3 et 12 avec une moyenne de 6 et un C/S compris entre 57 et 85 alors que les champignons ont un C/N compris entre 4 et 60 avec une moyenne de 12 et un C/S compris entre 180 et 230 (Strickland et Rousk, 2010 ; Saggar et al., 1981 ; Wu et al., 1994 ; Mouginot et al., 2014). Afin de maintenir l'homéostasie stœchiométrique, les microorganismes ajustent l'utilisation et l'acquisition en éléments nutritifs et influencent ainsi la disponibilité en éléments nutritifs dans les sols (Haney et al., 2012 ; Geisseler et al., 2010 ; Zechmeister-Boltenstern et al., 2014). Si la matière organique soluble absorbée présente un ratio C/nutriment minéral inférieur au ratio de la biomasse vivante, le minéral en excès sera excrété vers le stock des nutriments solubles (minéralisation nette). Par contre, si le ratio de la matière organique est supérieur à celui de la biomasse vivante, le manque de minéraux sera compensé en mobilisant et prélevant les éléments minéraux nécessaires (immobilisation nette) (Mooshammer et al., 2014a, 2014b). La mobilisation des éléments nutritifs s'effectuera *via* la production d'enzymes susceptibles de dégrader les ressources organiques disponibles dans leur environnement (Mooshammer et al. 2014b). La résultante des activités de minéralisation et d'immobilisation de l'ensemble des microorganismes conduit à une minéralisation nette ou une immobilisation nette, à l'échelle du sol.

2.4.2 Régulation des activités enzymatiques

2.4.2.1. Modèles de régulation des activités enzymatiques microbiennes

A l'échelle de la communauté microbienne, les activités enzymatiques sont généralement positivement corrélées à l'abondance et à l'activité microbienne (Tableau 2.1) ainsi qu'à la teneur du sol en matière organique (Tableau 2.1). La corrélation positive entre matière organique et activités enzymatiques peut être la conséquence indirecte de l'augmentation de la biomasse microbienne causée par la matière organique mais également une conséquence directe de la stimulation de la synthèse des enzymes par la présence de substrats (présents dans la matière organique des sols ou issus de la mort des cellules microbiennes) et de la levée des répressions par les produits, consommés par les microorganismes.

Tableau 2.1 Corrélations significatives ($p < 0,05$) entre activités enzymatiques microbiennes et teneur en carbone organique du sol ou biomasse microbienne carbonée. Les valeurs données sont les coefficients de corrélation (r) de Pearson.

Enzyme	Biomasse microbienne C	C organique du sol	Référence
Phosphatase		0,68	Balota et al., 2011
	0,87	0,87	Balota et al., 2011
		0,8	Gispert et al., 2013
	0,30		Jorge-Mardomingo et al., 2013
β -glucosidase		0,61	Lopez-Garrido et al., 2012
		0,65	Melero et al., 2009
		0,67	Gispert et al., 2013
	0,89		Jorge-Mardomingo et al., 2013
β -glucosamidase	0,55-0,73	0,67-0,84	Giacometti et al., 2013
	0,44-0,71	0,42-0,76	Ekenler et Tabatabai, 2002
	0,64		Jorge-Mardomingo et al., 2013
Uréase	0,57-0,76	0,74-0,93	Giacometti et al., 2013
	0,40-0,56		Klose et Tabatabai, 2000

L'abondance des enzymes impliquées dans la mobilisation des éléments nutritifs dans le sol dépend de leur niveau de synthèse par les microorganismes et de leur temps de demi-vie. La synthèse de ces enzymes peut être constitutive mais est plus généralement régulée, en raison du coût en matière (C, N, S...) et en énergie pour leur production (Frankena et al., 1988 ; Christiansen et Nielsen, 2002). Les mécanismes de régulation de la synthèse sont variables selon les enzymes considérées mais impliquent souvent une stimulation par le substrat et une répression par le produit de la réaction ou par le carbone (Geisseler et Horwath, 2009b ; Allison et al., 2011).

Dans le cas particulier des enzymes extracellulaires, la régulation de la synthèse des enzymes est décrite par la théorie de l'allocation des ressources (German et al., 2011 ; Allison et al., 2014). Les enzymes ne sont synthétisées que s'il y a un « retour sur investissement » suffisant (Schimel et Weintraub, 2003 ; Allison et al., 2011), c'est-à-dire si les quantités de substrat sont suffisantes pour couvrir les coûts de production des enzymes. Selon cette théorie, en dessous d'une certaine concentration en substrat, la synthèse des enzymes devrait donc être réprimée (Allison et al., 2014 ; German et al., 2011). Cependant, de petites quantités d'enzymes sont synthétisées de manière constitutive afin que les microorganismes puissent détecter la présence de substrats dans leur environnement (Allison et al., 2011). Toujours en lien avec la théorie de l'allocation des ressources, la

synthèse des enzymes peut être inhibée par les produits de la réaction catalysée (Sinsabaugh et Moorhead, 1994). La perception de l'environnement par les microorganismes est cruciale pour la régulation de la synthèse des enzymes. La structure du sol et sa teneur en eau vont modifier la diffusion et la concentration relative des enzymes, des substrats et des produits, et donc, conjointement avec le pH et la température, modifier la vitesse de la réaction enzymatique et la perception du milieu par les microorganismes (Redfield, 2002 ; Allison et al., 2011 ; Sinsabaugh et al., 2008 ; Kuka et al., 2007).

Il est généralement admis que la composition et la diversité de la communauté microbienne, contrairement à son abondance, n'ont pas d'effet sur le niveau d'activité enzymatique en raison de l'importante redondance fonctionnelle des communautés microbiennes du sol (Griffiths et al., 2001 ; Wertz et al., 2006 ; Bell et al., 2009 ; Le Roux et al., 2011). Néanmoins, ceci est à nuancer selon les activités enzymatiques considérées (par exemple, pour la dénitrification ; Philippot et al., 2013). Du point de vue de la composition fonctionnelle, l'abondance relative des microorganismes oligotrophes et copiotrophes, qui présentent des activités enzymatiques différentes par unité de biomasse et qui se développent dans des conditions différentes, pourrait théoriquement modifier le niveau d'activité enzymatique des sols. Aucune étude à notre connaissance n'a étudié le lien entre l'abondance de ces groupes fonctionnels et l'activité enzymatique mesurée à l'échelle du sol. En revanche, le développement de ces groupes sont supposés pouvoir accélérer la décomposition de la matière organique (effet « priming ») (Fontaine et al., 2003 ; Blagodatskaya et Kuzyakov, 2008).

Une fois libérées dans l'environnement, les enzymes interagissent avec les composants du sol. Elles peuvent être dégradées par des protéases ou stabilisées par adsorption sur les argiles, les tannins et les polyphénols. Cette stabilisation protège les enzymes de la dégradation par les protéases du sol. Suivant les cas, l'enzyme stabilisée peut rester active ou non. Ces mécanismes de stabilisation peuvent également concerner les enzymes intracellulaires libérées suite à la lyse des cellules microbiennes.

2.4.2.2. Cas des activités protéases et arylsulfatases

D'après les études sur souches microbiennes, la synthèse des protéases extracellulaires peut être constitutive, ou régulée (Cohen, 1981). Ainsi, la synthèse peut être induite par le substrat (les protéines) ou réprimée par les produits de la réaction (acides aminés, azote minéral) (Allison et Macfarlane, 1990 ; Hase et Finkelstein, 1993 ; Beg et al., 2002). La synthèse peut également être réprimée par le glucose, ce qui suggère que ces enzymes sont aussi régulées par la disponibilité en carbone du milieu (Beg et al., 2002). Enfin, la synthèse de certaines protéases fongiques est induite par

la limitation en soufre car les protéines constituent une source d'acides aminés soufrés (Marzluf, 1994 ; Rolland et Bruel, 2008).

Dans les sols, l'activité protéase peut être constitutive ou induite par la disponibilité en substrat (Geisseler et Horwath, 2008 ; Weintraub et Schimel, 2005 ; Mrkonjic Fuka et al., 2008a) (Figure 2.2). La répression de la synthèse des protéases par les produits de la réaction (acides aminés et azote minéral) n'a pas été observée par Geisseler et Horwath (2008) et Jan et al. (2009). Néanmoins, en se basant sur des corrélations, Hofmockel et al. (2010) suggèrent que la synthèse est réprimée par l'ammonium. En plus de l'induction par le substrat, il semblerait que la synthèse de protéases soit induite par le besoin en C mais pas par le besoin en N (Sims et Wander, 2002 ; Geisseler et Horwath, 2008), sauf dans les sols très limités en N minéral (inférieur à 5mg N/kg) (Geisseler et Horwath, 2008). La synthèse de protéases pourrait être la stratégie la plus favorable énergétiquement dans les cas où C et N sont à la fois limitants, les stratégies de capture de NH_4^+ étant plus efficaces quand seul le N est limitant (Geisseler et Horwath, 2008).

D'après les études sur isolats microbiens, la synthèse des arylsulfatases peut être régulée par deux mécanismes. Dans le premier cas, la synthèse des arylsulfatases est réprimée en présence de sulfate, de cystéine (un acide aminé soufré essentiel) ou des intermédiaires de la biosynthèse de la cystéine (sulfites et sulfides) et induite en l'absence de ces composés (Beil et al., 1995 ; Dodgson et al., 1982 ; Kertesz et al., 1993 ; Murooka et Harada, 1981). Dans le second cas, la synthèse est stimulée par la présence d'esters de sulfate, même en présence de soufre minéral (Cregut et al., 2013). Par ailleurs, chez les organismes possédant plusieurs arylsulfatases, les différentes formes de régulation peuvent coexister (Cregut et al., 2013). Les mêmes mécanismes de contrôle existent chez les champignons, mais la synthèse des arylsulfatases y est également réprimée par la méthionine (Goodwin et al., 2000 ; Marzluf, 1994), ce qui n'est pas le cas chez les bactéries (Kertesz, 1999).

Les arylsulfatases, du fait de la libération de S minéral susceptible d'entrer dans la voie de biosynthèse de la cystéine, peuvent être régulées par la disponibilité en certains composés azotés. La synthèse est ainsi induite par les monoamines et inhibée par l'ammonium chez les bactéries (Murooka et al., 1996 ; Murooka et Harada, 1981).

La régulation des arylsulfatases par les composés soufrés dans les sols est moins facile à mettre en évidence, en raison de la stabilisation de la fraction extracellulaire par les constituants du sol. Il a néanmoins été montré que de faibles niveaux de sulfates stimulaient l'activité arylsulfatase tandis que des niveaux élevés la réprimaient (Saviozzi et al., 2006). En revanche, l'apport de rhizodépôts contenant de la cystéine n'inhibe pas l'activité arylsulfatase (Dedourge et al., 2004) (Figure 2.3).

Les niveaux d'activités arylsulfatase et protéase dépendent de la texture des sols. L'activité arylsulfatase est plus élevée dans les sols argileux que dans les sols limoneux-sableux (Gajda et al.,

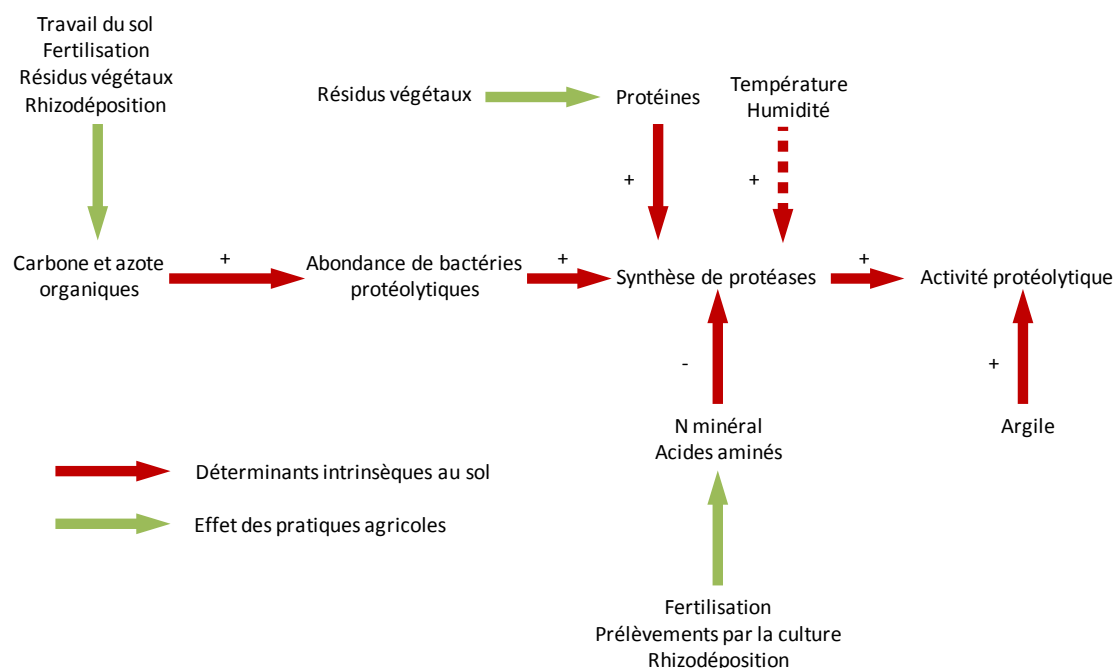


Figure 2.2 Contrôles environnementaux de l'activité protéase. En pointillé, les facteurs dont l'action est incertaine.

2013 ; Perucci et Scarponi, 1984). Une activité supérieure a également été observée dans un sol calcaire par rapport à un sol brun acide (Dedourge et al., 2004). Ces différences pourraient être dues à des différences de stabilisation par les constituants du sol (argile), à des différences de teneur en matière organique, plus élevée dans ces sols argileux que dans les sols limoneux-sableux, ou à une dénaturation des enzymes en environnement acide (ce qui serait cohérent avec la corrélation positive observée entre pH et activité ; Fu et al., 2012 ; Jorge-Mardomingo et al., 2013 ; Gispert et al., 2013). Les protéases sont stabilisées dans les sols par les argiles (Mrkonjic Fuka et al., 2008a). Les arylsulfatases peuvent être stabilisées par les acides humiques mais les complexes acides humiques-arylsulfatase ne sont responsables que d'une fraction de l'activité arylsulfatase (Whalen et Warman, 1996).

Les activités enzymatiques sont également influencées par les facteurs météorologiques. L'activité protéase est positivement corrélée avec le niveau de précipitations ou d'humidité du sol (Mancinelli et al., 2013 ; Sardans et Penuelas, 2005 ; Gispert et al., 2013 ; Dilly et al., 2007) ainsi qu'avec la température (Fraser et al., 2013). L'activité arylsulfatase est positivement corrélée à l'humidité du sol (Vanegas et al., 2013). Le mode d'action des précipitations et de la température sur l'activité des enzymes est peu clair (Bell et Henry, 2011) mais plusieurs mécanismes sont avancés : modification de la rhizodéposition, effet des conditions climatiques sur la croissance microbienne, modification de la diffusion des substrats et des enzymes en fonction de la teneur en eau du sol (Geisseler et al., 2011, 2012).

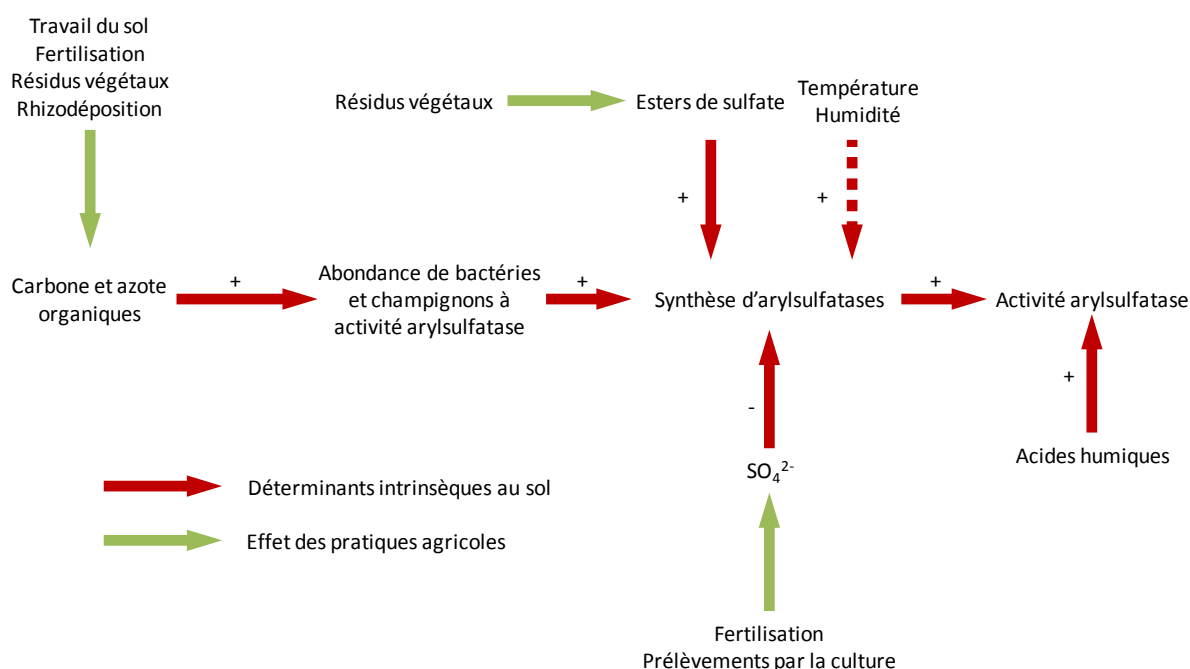


Figure 2.3 Contrôles environnementaux de l'activité arylsulfatase. En pointillé, les facteurs dont l'action est incertaine.

Les variations interannuelles et inter saisonnières observées pour les activités protéase (Geisseler et Horwath, 2009a ; Soon et al., 2007 ; Mancinelli et al., 2013) et arylsulfatase (Cregut et al., 2009 ; Slezack-Deschaumes et al., 2012 ; Whalen et Warman, 1996 ; Gajda et al., 2013 ; Zaccardelli et al., 2013) peuvent en partie être attribuées à la météorologie mais aussi au type de couvert implanté et à son stade de développement de ce dernier.

Dans les sols, les activités protéase et arylsulfatase sont, comme la plupart des activités enzymatiques, bien corrélées avec les indicateurs d'abondance, de biomasse et d'activité microbienne (respiration, autres activités enzymatiques impliquées dans l'acquisition de nutriments, minéralisation de l'azote, immobilisation du soufre) (Tableaux 2.2 et 2.3, Figures 2.2 et 2.3). L'activité protéase peut être corrélée avec l'abondance des bactéries protéolytiques, mesurée par l'abondance de gènes, mais la stabilisation des protéases par les argiles conduit à un découplage entre l'activité protéase et l'abondance de bactéries protéolytiques dans les sols argileux (Mrkonjic Fuka et al., 2008a, Asmar et al., 1992). L'activité arylsulfatase est corrélée à l'abondance des microorganismes possédant l'arylsulfatase, particulièrement les champignons cultivables (Slezack-Deschaumes et al., 2012 ; Piutti et al., 2015), ce qui laisse supposer une synthèse en partie constitutive, surtout chez les champignons. Comme pour la plupart des enzymes, leurs activités sont également corrélées à l'abondance de matière organique dans les sols (Tableaux 2.2 et 2.3). Peu d'informations sont disponibles sur l'effet

Tableau 2.2 Corrélations significatives ($p < 0,05$) entre l'activité protéase et certaines variables du sol. Les valeurs sont les coefficients de corrélation (r) de Pearson.

Protéines du sol	C organique	N total	Autres activités enzymatiques microbiennes	Respiration	Biomasse microbienne	Abondance microbienne	Minéralisation de N
0,77a	0,76b	0,74b	>0,5f	0,59a	0,3f	0,9g	0,57-0,86m
	0,78a	0,84a	>0,8g	0,68k	0,55c	>0,9e	0,39n
	0,71c		0,83-0,93a		0,58-0,75i	0,88h	
	0,58-0,79d		0,52c		0,55-0,75d	0j	
	0,91e		0,97-0,99e		0-0,94j	0,63-0,94l	
			0,65-0,72h				

a Gispert et al., 2013 ; b Tian et al., 2013 ; c Alvaro-Fuentes et al., 2013 ; d Giacometti et al., 2013 ; e Fu et al., 2012 ; f Jorge-Mardomingo et al., 2013 ; g Zhang et al., 2013 ; h Badalucco et al., 1996 ; i Geisseler et al., 2012 ; j Sims et Wander, 2002 ; k Geisseler et Horwath, 2008 ; l Asmar et al., 1992 ; m Zaman et al., 1999 ; n Mishra et al., 2005

Tableau 2.3 Corrélations significatives ($p < 0,05$) entre l'activité arylsulfatase et certaines variables environnementales. Les valeurs données sont les coefficients de corrélation (r) de Pearson

de la composition ou de la diversité des communautés microbiennes sur les activités protéase et arylsulfatase. Sakurai et al. (2007) supposent que l'augmentation de l'activité protéase dans la rhizosphère de la laitue est liée à la modification de la composition de la communauté des bactéries à *apr* (metalloprotéases alcalines), probablement due à la rhizodéposition de composés carbonés par la plante. Le lien entre le niveau d'activité arylsulfatase et la composition de la communauté microbienne, bactérienne ou fongique, possédant cette activité n'est pas facile à établir du fait de peu d'études présentes dans la littérature. Les travaux menés au laboratoire ont cependant mis en évidence des différences d'activité arylsulfatase entre les rhizosphères d'orge et de colza, avec une plus forte activité dans une rhizosphère dominée par les pseudomonades que dans une rhizosphère dominée par les Actinobacteria (Cregut et al. 2009).

2.5 Effet des pratiques agricoles sur les communautés microbiennes

Les principales pratiques agricoles (travail du sol, fertilisation, composition de la succession culturale) modifient la quantité et la qualité des ressources disponibles pour les microorganismes des sols. En influençant la quantité, la qualité et l'accessibilité de la matière organique, le pH, la disponibilité en eau et la disponibilité en oxygène, les pratiques agricoles sont susceptibles de modifier l'abondance, la diversité et l'activité microbienne. L'effet peut aussi être plus indirect, en modifiant la production

Tableau 2.3 Corrélations significatives ($p < 0,05$) entre l'activité arylsulfatase et certaines variables du sol. Les valeurs sont les coefficients de corrélation (r) de Pearson.

Matière organique ou C organique	N soluble ou total	S organique	SO ₄ ²⁻	pH	Biomasse microbienne	Autres activités enzymatiques microbiennes	Respiration microbienne	Immobilisation microbienne de S	Abondance de bactéries et champignons à arylsulfatase	Teneur en S végétale	Prélèvement de S par la plante
0,87a	0,43g	0,74n	0,6g	0,77r	0,82-0,87e	0,59-0,93e	0,62e	0,83-0,86l	0,50-0,66m	-0,3g	0,51k
0,72d	0,72u			0,39v	0,41o	0,33-0,86f	0,83-0,97l	0,79q	0,66-0,84p	0,99h	0,81-0,89w
0,91-0,92e	0,4v				0,95-0,99e	0,44-0,59i		0,75-0,79s		0,65j	
0,38g					0,56f	0,5-0,71r		-0,96t		0,5k	
0,87j					0,38o			0,73-0,96t			
0,82n					0,79q						
0,74q					0,65s						
0,71r					0,85-0,90t						
0,32v											

a Elsgaard et al., 2002 ; b Baligar et al., 1999 ; d Vanegas et al., 2013 ; e Gajda et al., 2013 ; f Ajwa et al., 1999 ; g Lemanowicz et al., 2014 ; h Whalen et Warman, 1996 ; i Perucci et al., 1984 ; j Castro Lopes et al., 2012 ; k Legay et al., 2014 ; l Vong et al., 2008 ; m Cregut et al., 2009 ; n Pinto et Nahas, 2002 ; o Klose et al., 1999 ; p Slezack-Deschaumes et al., 2012 ; q Dedourge et al., 2003 ; r Deng et Tabatabai, 1997 ; s Vong et al., 2003 ; t Dedourge et al., 2004 ; u Vong et al., 2007 ; v Goux et al., 2012 ; w Vong et al., 2002

de biomasse végétale et par conséquence la quantité et la qualité de la matière organique retournant au sol (Figure 2.4).

2.5.1 Effet des plantes

cultivées

Les plantes influencent les communautés microbiennes au cours de leur développement en prélevant des nutriments minéraux, ce qui les fait entrer en compétition avec les microorganismes et en modifiant les « conditions de vie » dans la rhizosphère (Korsaeth et al., 2001 ; Inselebach et al., 2010 ; Bell et al., 2015). Les plantes génèrent de la litière racinaire et exsudent des molécules organiques et des ions minéraux (rhizodéposition) qui peuvent servir de ressources trophiques pour les communautés microbiennes (Hütsch et al., 2002 ; Paterson, 2003 ; Cheng et Kuzakov, 2005 ; Tableau 2.4). De plus, elles peuvent sélectionner différentes populations de microorganismes (Bais et al., 2004, 2006 ; De-la-Peña et Loyola-Vargas, 2014). Afin de mieux comprendre comment les plantes, selon l'espèce végétale considérée

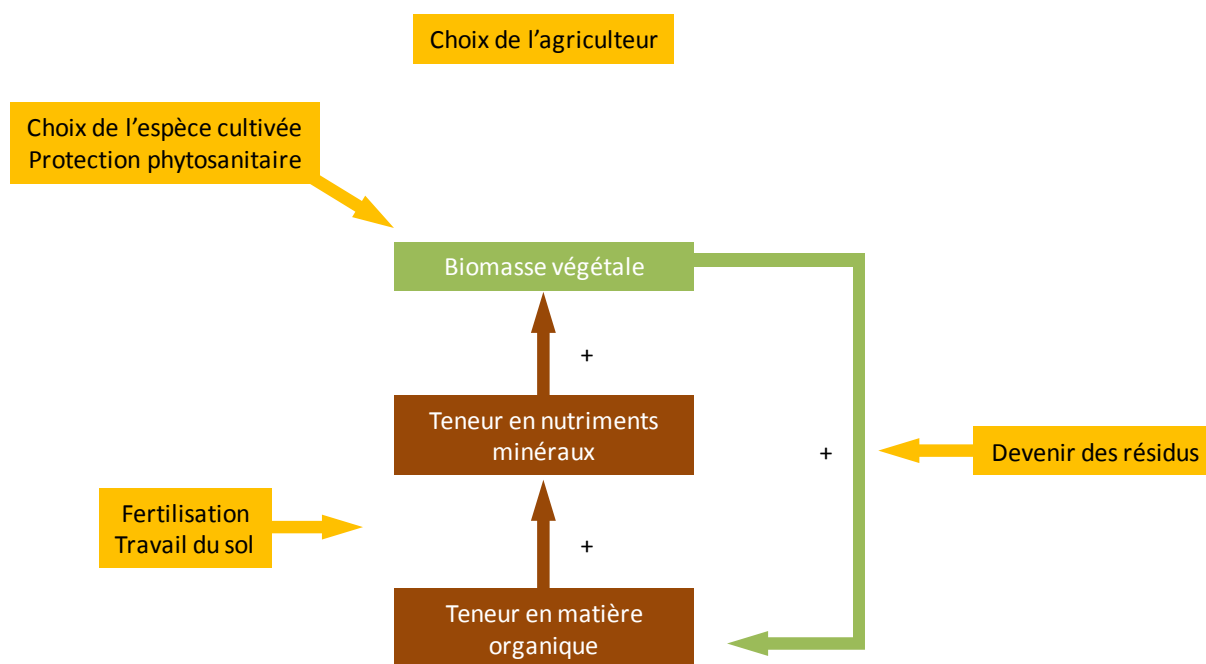


Figure 2.4 Niveau d'action des pratiques agricoles sur le sol. Certaines pratiques modifient directement le sol, d'autres modifient les caractéristiques de la culture. Des boucles de rétroaction existent entre culture et sol.

Plusieurs études ont montré des liens entre les traits fonctionnels aériens et les processus écosystémiques des sols. Ainsi, la surface spécifique foliaire (SLA) est positivement corrélée à la minéralisation de l'azote (Ordonez et al., 2009) et à l'activité phosphatase mais négativement corrélée avec la biomasse microbienne et la teneur du sol en N minéral (Grigulis et al., 2013 ; Garcia-Palacios et al., 2013). Néanmoins, le pouvoir explicatif des traits fonctionnels aériens est essentiellement lié à leur

Tableau 2.4 Caractéristiques de trois espèces cultivées.

Espèces	Pois	Blé	Colza
Quantité de résidus aériens (kgC/ha)	680-860 ^e	1500-2100e	1370-1550e
Quantité de résidus racinaires (kgC/ha)	200-220 ^e	450-600e	535e
C/N résidus aériens	44c	40-55g	33-45g
C/N résidus racinaires	16-23d	43-45gh	10-55f
Rhizodéposition C (kgC/ha)	130-145 ^e	290-390e	350e
Rhizodéposition N (kgN/ha)	6-56a	20-26i	na

a Mayer et al., 2003b; Wichern et al., 2008 ; b Carrouée et al., 1999 ; c Soon et Arshad, 2002, Lupwayi et al., 2006, Kumar et Goh, 2002, Gan et al., 2011, Engstrom et Linden, 2012, Jensen, 1996b, 1997, Arcand et al., 2014 ; d Soon et Arshad, 2002, Jensen, 1996b, Arcand et al., 2014 ; e Gan et al., 2009 ; f Vong et al., 2007, Gan et al., 2011 ; g Gan et al., 2011 ; h Kumar et Goh, 2002 ; i Janzen, 1990, Wichern et al., 2008

capacité à prédire la décomposition des résidus aériens entrant dans le sol (Grigulis et al., 2013). Les traits fonctionnels racinaires pourraient être également importants à prendre en compte car les racines sont une part importante de la biomasse végétale et sont impliquées directement dans les processus d'acquisition des nutriments et dans des interactions avec les microorganismes des sols et selon son stade de développement, influencent les communautés microbiennes du sol et leur fonctionnement, un ensemble d'études récentes se sont appuyées sur l'analyse de traits fonctionnels. (Bardgett et al., 2014). Parmi les traits fonctionnels racinaires, le pourcentage de racines fines (diamètre inférieur à 2mm), le diamètre racinaire et la longueur racinaire spécifique (longueur/masse) (Eissenstat, 1992 ; Ryser, 1998 cité par Roumet et al., 2006 ; Mommer et al., 2011) sont positivement corrélés au prélèvement de nutriments. Les traits fonctionnels racinaires positivement corrélés à la rhizodéposition sont la biomasse racinaire totale (corrélée à la quantité totale de rhizodépôts ; de Graafe et al., 2007 cité par Wichern et al., 2007b) ainsi que les teneurs en azote et en carbone, qu'elles soient totales (Roumet et al., 2008) ou extractibles à l'eau chaude (Vong et al., 2007). Les plantes cultivées modifient ainsi l'abondance et la composition des communautés microbiennes de la rhizosphère par rapport au sol non rhizosphérique, et cet effet varie en fonction de l'espèce concernée. Bell et al. (2015) observent par exemple une plus grande biomasse microbienne et une plus forte abondance relative d'Actinobacteria et de Chloroflexi mais une plus faible abondance relative de Proteobacteria, d'Acidobacteria et Gemmatimonadetes dans la rhizosphère de Poacées comparé au sol environnant. Garbeva et al. (2008) observent plus de bactéries sous le maïs, qui produit plus de biomasse racinaire, que sous l'orge et l'avoine. En comparant le riz, le maïs et le haricot mungo, Xuan et al. (2012) observent que l'abondance relative des principaux phyla bactériens ne varie pas entre plantes. En revanche, l'abondance des phyla peu abondants varie entre plantes, conduisant à une diversité taxonomique plus élevée sous le maïs et le haricot mungo que sous le riz.

Cet effet des espèces cultivées s'observe aussi pour les communautés de microorganismes protéolytiques (Sakurai et al., 2007 ; Mrkonjic Fuka et al., 2009) et possédant l'activité arylsulfatase (Cregut et al., 2009) dont l'abondance et la composition dans la rhizosphère diffèrent de celle du sol environnant. Cet effet varie en fonction de l'espèce voire de la variété cultivée. Gschwendtner et al. (2010) observent une variation de l'abondance de gènes *apr* (codant pour les métalloprotéases alcalines) entre deux variétés de pomme de terre. Les bactéries à activité arylsulfatase sont plus abondantes dans la rhizosphère du colza que dans la rhizosphère de l'orge (Cregut et al., 2009) et cette communauté est dominée par les Pseudomonades dans la rhizosphère du colza tandis qu'elle est dominée par les Actinobacteria dans la rhizosphère de l'orge (Cregut et al., 2009). L'abondance supérieure des bactéries possédant l'activité arylsulfatase dans la rhizosphère du colza est probablement due à la rhizodéposition plus importante du colza (Vong et al., 2007) et peut-être reliée aux besoins supérieurs du colza en soufre.

Cet effet des plantes cultivées sur les communautés microbiennes se retrouve enfin au-niveau des activités protéase et arylsulfatase. Les activités protéase (Sakurai et al., 2007) et arylsulfatase (Stursova et al., 2006 ; Vong et al., 2007 ; Vong et al., 2003 ; Castellano et Dick, 1991) augmentent dans la rhizosphère comparée au sol nu et varient en fonction des espèces de plantes (Dinesh et al., 2004 ; Cregut et al., 2009 ; Knauff et al., 2003 ; Kotkova et al., 2008). Cet effet peut être lié aux modifications d'abondance et de composition des communautés microbiennes. Par exemple, les communautés de la rhizosphère du colza sont plus efficaces pour la production d'arylsulfatases (activité arylsulfatase rapportée par unité de biomasse bactérienne soufrée) (Dedourge et al., 2003). Cette sélection de communautés pourrait être causée par la sécrétion d'acides organiques (acide malique et acide succinique) qui seraient des sources de carbone plus efficaces pour la production d'arylsulfatases (Vong et al., 2003). Il s'agirait d'une stratégie du colza, une plante avec de forts besoins en S, pour sélectionner les communautés bactériennes les plus à même de minéraliser le soufre. Mais cet effet peut également être lié au prélèvement de nutriments minéraux par la plante. En effet, la synthèse de l'arylsulfatase est inhibée par le sulfate et dans les sols, l'activité arylsulfatase est positivement corrélée au prélèvement de soufre et à la teneur en soufre des plantes (Tableau 2.3). Ceci explique que l'activité arylsulfatase soit généralement plus élevée sous les Brassicacées, intermédiaire sous les Poacées et plus faible sous les Fabacées (Cregut et al., 2009 ; Knauff et al., 2003 ; Kotkova et al., 2008). Au sein de chacune de ces familles botaniques des différences entre espèces existent : l'activité est ainsi 50 à 60% plus élevée sous l'avoine que sous le maïs (Klose et al., 1999). Des différences d'activités peuvent aussi s'observer en fonction de la stratégie écologique des plantes : l'activité est plus élevée sous une Poacée à stratégie exploitative, qui va prélever beaucoup de sulfates, que sous une Poacée à stratégie conservatrice (Legay et al., 2014). L'effet particulier des espèces prairiales sur la fertilité des sols est traité en Annexe 1.

L'effet de la plante sur les communautés microbiennes varie en fonction de son stade phénologique, ce qui peut s'expliquer par les variations de rhizodéposition et de prélèvements au cours du développement (Salon et al., 2001 ; Mougél et al., 2006 ; Arcand et al., 2013a ; Bell et al., 2015). Ainsi, l'abondance du gène *npr*, codant pour les métalloprotéases neutres, est plus élevée au début de la période végétative qu'au stade floraison dans la rhizosphère de la pomme de terre, tandis que l'abondance des gènes codant pour les métalloprotéases alcalines ne varie pas (Gschwendtner et al., 2010). L'abondance des bactéries possédant l'activité arylsulfatase tend à augmenter au-cours du développement dans les rhizosphères de l'orge et du colza (Cregut et al., 2009) tandis que l'abondance des champignons possédant l'activité arylsulfatase reste stable au cours du développement du colza, excepté une diminution au moment de la formation des siliques (Slezack-Deschaumes et al., 2012).

Aux stades de formation des siliques et de maturité des graines, la plupart des bactéries possédant l'activité arylsulfatase de la rhizosphère du colza appartiennent aux Proteobacteria (particulièrement aux *Pseudomonas*) alors que ces bactéries sont minoritaires aux stades montaison et floraison. L'activité arylsulfatase varie également au cours de la phénologie du colza (Slezack-Deschaumes et al., 2012). Elle est maximale au stade « élancement de la tige principale », un stade où le colza prélève beaucoup de soufre avant de diminuer aux stades « floraison » et « développement des graines », où les prélèvements sont plus faibles.

Les plantes ont aussi des effets à plus long terme en fonction de la quantité et de la qualité de la matière organique (résidus aériens lorsqu'ils sont enfouis, litière racinaire, rhizodépôts) qu'elles restituent au sol (Knops et al., 2002 ; Paterson, 2003 ; Tableau 2.4). Les espèces végétales produisant de plus grandes quantités de résidus entraînent des accroissements de la biomasse microbienne plus importants que les espèces en produisant peu (Griffith et al., 2010 ; Sainju et al., 2012 ; McDaniel et al., 2014). Les nutriments minéraux prélevés par la plante pendant son développement retournent au sol sous des formes organiques plus ou moins accessibles pour les microorganismes. De manière générale, l'orientation des flux d'azote ou de soufre suite à l'introduction de résidus dans les sols dépend respectivement des ratios C/N et C/S des résidus. La minéralisation nette est ainsi respectivement plus élevée après l'enfouissement de résidus à bas C/N (Carpenter-Boggs et al., 2000 ; Churka Blum et al., 2013) et à bas C/S (Eriksen et al., 2005 ; Niknahad-Gharmakher et al., 2012 ; Churka Blum et al., 2013).

Au niveau de la diversité fonctionnelle, l'entrée de résidus végétaux dans le sol apporte généralement de la matière organique soluble ou facilement décomposable qui favorise le développement des microorganismes copiotrophes. Néanmoins, à mesure que la matière organique soluble s'épuise, les microorganismes oligotrophes qui se développent plus lentement, deviennent dominants dans la communauté par des mécanismes d'exclusion compétitive (Fontaine et al., 2003 ; Pascault et al., 2013 ; Chen et al., 2014). Ces évolutions peuvent se refléter au niveau taxonomique, les Acidobacteria (oligotrophes) succédant par exemple aux Bacteroidetes (copiotrophes) (Chen et al., 2014).

Les effets des résidus végétaux sur la biomasse microbienne se répercutent sur les activités enzymatiques des microorganismes (Melero et al., 2011 ; Ailincăi et al., 2008 ; Perucci et al., 1997 ; Ekenler et Tabatabai, 2002 ; Klose et al., 1999 ; Klose et Tabatabai, 2000 ; de Varennes et al., 2007 ; Dodor et Tabatabai, 2003). Les résidus végétaux ont généralement un effet positif sur les activités protéase (Cayuela et al., 2009) et arylsulfatase (Perucci et al., 1984 ; Perucci et Scarponi, 1984). Ils provoquent une augmentation de 30 à 50% en moyenne de l'activité arylsulfatase (Perucci et al., 1984 ; Perucci et Scarponi, 1984) mais cet effet dépend de l'espèce utilisée. Ainsi les résidus de tomate font décroître l'activité de 17% tandis que le sorgho augmente l'activité de seulement 17% (Perucci et al.,

1984 ; Perucci et Scarponi, 1984), mais cet effet est conditionné par la disponibilité en sulfates du sol (Piutti et al., 2015). L'augmentation de l'activité en présence de résidus végétaux s'accompagne d'une modification des paramètres cinétiques des arylsulfatases ce qui pourrait indiquer un changement de la population des microorganismes à l'origine de la synthèse des arylsulfatases (Perucci et Scarponi, 1984). De même, les résidus de coton augmentent plus l'activité protéase que les résidus de blé (Cayuela et al., 2009).

Ces effets des résidus peuvent conduire à des modifications de la minéralisation de l'azote ou du soufre, respectivement plus élevée après l'enfouissement de résidus à faible C/N (Carpenter-Boggs et al., 2000 ; Churka Blum et al., 2013) et C/S (Eriksen et al., 2005 ; Niknahad-Gharmakher et al., 2012 ; Churka Blum et al., 2013).

2.5.2 Effet du travail du sol

Le régime de travail du sol est caractérisé par sa fréquence, sa profondeur et le retournement ou non du sol. Le retournement est le principal facteur affectant les paramètres du sol (Alvarez, 2005 ; Liu et al., 2006). Comparé au labour avec retournement, les sols soumis à une absence de travail du sol ou à un travail sans retournement présentent une densité plus importante et une diminution de la porosité totale qui résulte d'une diminution du volume de macropores (-25 à -50%) et d'une augmentation du volume de méso ou de micropores (Tebrügge et Düring, 1999 ; Lipiec et al., 2006 ; Rasmussen, 1999 ; Pastorelli et al., 2013). Il en résulte une plus forte stabilité structurale (Rusu et al., 2002 ; Carter et al., 2009 ; Tebrügge et Düring, 1999 ; Tabaglio et al., 2009 ; Rasmussen, 1999), une plus forte capacité de rétention d'eau (Malecka et al., 2012 ; Rasmussen, 1999) et une plus grande fréquence des situations d'anoxie (Rochette, 2008). Ces sols présentent une teneur en carbone organique supérieure aux sols retournés (+3 à +9%) (Balesdent et al., 2000 ; Alvarez, 2005). Cet enrichissement en matière organique est dû à une minéralisation moins rapide liée à une plus faible entrée d'oxygène, une plus faible température du sol, un plus faible contact entre résidus végétaux et sol et à la protection de la matière organique dans les agrégats, qui sont détruits lors du travail profond (Beare et al., 1994 ; Balesdent et al., 2000 ; Alvarez, 2005 ; Liu et al., 2006 ; Dimassi et al., 2014 ; Panettieri et al., 2014). L'enrichissement en carbone est généralement supérieur à l'enrichissement en azote (Balesdent et al., 2000). Il en résulte une augmentation du C/N du sol (Tabaglio et al., 2009 ; Malecka et al., 2012). En conséquence de l'augmentation de la matière organique, la biomasse microbienne augmente dans les systèmes de travail du sol sans labour (généralement de +20 à +60% pour la biomasse carbonée ; Berner et al., 2008 ; Murugan et al., 2014 ; Oorts et al., 2006 ; Melero et al., 2009 ; Madejon et al., 2009 ; van Capelle et al., 2012 ; Gajda et al., 2013 ; Lopez-Garrido et al., 2012 ; Panettieri et al., 2014), principalement due

à une augmentation de la biomasse fongique (Murugan et al., 2014 ; van Capelle et al., 2012), qui est peut être liée à l'augmentation du C/N ou à une légère acidification en surface (Lopez-Fando et Almendros, 1995 ; Berner et al., 2008 ; Pastorelli et al., 2013).

Ces augmentations de la matière organique et de la biomasse microbienne entraînent une augmentation des activités enzymatiques : β -glucosidase (van Capelle et al., 2012 ; Lopez-Garrido et al., 2011, 2012 ; Melero et al., 2009 ; Panettieri et al., 2014), phosphatase alcaline (Melero et al., 2011), protéase (0 à +450% ; Madejon et al., 2009), arylsulfatase (0 à +200% ; Gajda et al., 2013 ; Panettieri et al., 2014). En revanche, la minéralisation (nette et brute) de N est plus élevée en labour qu'en travail du sol sans retournement (Van Den Bossche et al., 2009 ; Dong et al., 2012 ; Ajirloo et Ahangar, 2014). Cependant, dans une des rares études disponibles, cette tendance n'a pas été observée pour la minéralisation du soufre (Balota et al., 2014).

Le travail du sol peut aussi avoir des effets indirects en modifiant la production de biomasse végétale (Virto et al., 2012) et la rhizodéposition (Lopez-Bellido et al., 2011), ce qui pourrait modifier la qualité et la quantité de la matière organique disponible pour les microorganismes.

2.5.3 Effet de la fertilisation

2.5.3.1 Fertilisation minérale

La fertilisation azotée minérale augmente la teneur en matière organique du sol de 10 à 20 % en raison d'une augmentation de la biomasse végétale produite, particulièrement si les résidus aériens sont enfouis (Alvarez, 2005 ; Ladha et al., 2011 ; Korschens et al., 2013 ; Geisseler et Scow, 2014). La fertilisation peut également impacter la teneur en matière organique du sol en modifiant la rhizodéposition de certaines espèces cultivées. Ainsi, la fertilisation minérale diminue généralement la rhizodéposition de C des céréales (Kuzakov et Schneckenberger, 2004) même si l'effet inverse a parfois été observé (par exemple, Swinnen et al., 1995).

L'augmentation de matière organique due à la fertilisation est plus forte dans les sols à texture grossière que dans les sols à texture fine. Elle ne s'observe pas dans les sols de pH < 5 et est maximale dans les sols de pH $\geq$ 7 (Geisseler et Scow, 2014). Cette augmentation de la matière organique du sol entraîne une augmentation de la biomasse microbienne de l'ordre de 15% (Geisseler et Scow, 2014). Cette augmentation de la matière organique du sol et de la biomasse microbienne peut entraîner une faible augmentation de l'activité arylsulfatase (+10% ; Siwik-Ziomek et al., 2013), mais n'entraîne pas d'augmentation de l'activité protéase (Geisseler et Scow, 2014). Dans certains cas la fertilisation minérale azotée a un effet négatif sur les activités protéase (Giacometti et al., 2013) et arylsulfatase (Siwik-Ziomek et Koper, 2010). En revanche l'urée peut augmenter l'activité protéase (Zhang et al., 2013). La fertilisation minérale soufrée peut diminuer l'activité arylsulfatase (Gupta et al., 1988),

probablement en inhibant sa synthèse, mais également l'augmenter sous certaines espèces végétales (Legay et al., 2014), probablement en raison d'une modification de la rhizodéposition ou de la croissance du système racinaire. La fertilisation azotée minérale n'a globalement pas d'effet sur l'immobilisation et la minéralisation de l'azote (Booth et al., 2005) tandis que la fertilisation soufrée a peu d'effets sur la minéralisation nette du soufre (Anderson et al., 2006 ; Gallejones et al., 2012).

2.5.3.2 Fertilisation organique

Les différents fertilisants organiques ont des compositions et des labilités différentes en fonction de leur origine (résidus végétaux, déjections de volailles, de porcs ou de ruminants, boues d'épuration, déchets de l'industrie agroalimentaire) et de leur degré de transformation par compostage ou par digestion anaérobie (Bernal et al., 2009 ; Nkoa, 2014 ; Möller et Müller, 2012 ; Wang, 1997 ; Velthof et al., 2000 ; Fuchs et al., 2008 ; Bonten et al., 2014). Certains d'entre eux peuvent contenir des quantités importantes de nutriments sous forme minérale (particulièrement de l'ammonium) (Gutser et al., 2005 ; Darch et al., 2014). Ces différences de composition entraînent des variations de leur vitesse de décomposition dans le sol, et donc de l'amplitude et de la durée de leur effet. Les fertilisants organiques augmentent la teneur du sol en carbone organique de 20 à 80% (suivant la nature du fertilisant), soit 2 à 4 fois plus que les fertilisants minéraux (Edmeades, 2003 ; Diacono et Montemurro, 2010). En conséquence, les fertilisants organiques entraînent une augmentation de la biomasse microbienne carbonée de 36% en moyenne (Kallenbach et Grandy, 2011), supérieure à celle entraînée par la fertilisation minérale. La taille de la biomasse microbienne augmente plus vite en réponse à la fertilisation organique dans les sols argileux, les sols acides et les sols déjà riches en carbone organique et en biomasse microbienne. La fertilisation organique modifie la composition des communautés microbiennes, plutôt à long terme (Allison et Martiny, 2008), et favorise généralement les champignons par rapport aux bactéries (Ngosong et al., 2009). Les fertilisants organiques contenant des substances peu labiles vont avoir un effet plus faible sur la biomasse microbienne, tandis que de hautes doses d'urée et d'ammonium peuvent se révéler toxiques pour les microorganismes (Kallenbach et Grandy, 2011 ; Maillard et Angers, 2014 ; Simon et Czako, 2014).

L'augmentation de la matière organique et de la biomasse microbienne entraînent une augmentation des activités enzymatiques microbiennes : uréase (Tejada et al., 2006 ; Bastida et al., 2008 ; Giacometti et al., 2013 ; Jorge-Mardomingo et al., 2013 ; Ouni et al., 2013 ; Lee et al., 2013), β -glucosidase (Tejada et al., 2006 ; Bastida et al., 2008 ; Giacometti et al., 2013 ; Gispert et al., 2013 ; Jorge-Mardomingo et al., 2013 ; Zaccardelli et al., 2013 ; Ouni et al., 2013 ; Lee et al., 2013), phosphatase alcaline (Tejada et al., 2006 ; Bastida et al., 2008 ; Balota et al., 2011 ; Gispert et al., 2013 ; Jorge-Mardomingo et al., 2013 ; Zaccardelli et al., 2013 ; Ouni et al., 2013), protéase (généralement de +20 à +60% mais parfois jusqu'à

plus de +4000% ; Tejada et al., 2006 ; Fuchs et al., 2008 ; Giacometti et al., 2013 ; Jorge-Mardomingo et al., 2013 ; Ouni et al., 2013), arylsulfatase (+10 à +200% ; Tejada et al., 2006 ; Siwik-Ziomek et Koper, 2010 ; Zaccardelli et al., 2013 ; Ouni et al., 2013). L'apport de fertilisants organiques entraîne un pic d'immobilisation d'azote qui dure plusieurs semaines, dû à l'apport de carbone facilement assimilable (notamment les acides gras volatiles des déjections animales) (Dittert et al., 1998). L'azote immobilisé peut être reminéralisé dans les mois qui suivent. L'amplitude de cet effet dépend de la teneur en N minéral (Fuchs et al., 2008). En revanche, la fertilisation organique provoque une minéralisation nette de S, d'autant plus importante que le fertilisant est labile et riche en S (Wyngaard et Cabrera, 2015 ; Saviozzi et al., 2006 ; Reddy et al., 2002 ; Knights et al., 2001), les fertilisants les plus pauvres en S pouvant provoquer une immobilisation nette (Reddy et al., 2002 ; Saviozzi et al., 2006).

3. Les plantes adventices

3.1 Abondance et diversité

Les adventices peuvent être définies comme toutes les plantes présentes dans un champ cultivé sans y avoir été volontairement introduites (y compris les repousses des cultures précédentes) (Marouf et Reynaud, 2007). En France, l'Association de Coordination Technique Agricole liste environ 220 espèces d'adventices dans son ouvrage de référence (Mamarot et Rodriguez, 2011) mais 1200 espèces peuvent théoriquement se rencontrer dans les agroécosystèmes (Jauzein, 2001) et seules 26 espèces sont présentes dans plus de 15% des parcelles (Fried et al., 2007). Les adventices appartiennent à un grand nombre de familles botaniques mais plus de la moitié des espèces fréquemment rencontrées appartiennent à l'une des familles suivantes : Astéracées, Poacées, Brassicacées et Apiacées (Fried et al., 2007) (Tableau 3.X). En France, il y a en moyenne de 10 à 13 espèces d'adventices par parcelle en absence de traitement herbicide et entre 4 et 5 espèces après traitement (Fried et al., 2007, 2008b). Il faut noter que les espèces les plus fréquentes à l'échelle de la France ne sont pas forcément celles formant les peuplements les plus denses à l'échelle parcellaire (Fried et al., 2007).

D'un point de vue fonctionnel, les adventices présentent des caractéristiques qui leur permettent de se développer dans les cultures. Ce sont généralement des plantes avec une grande plasticité phénotypique, une capacité à se reproduire rapidement (germination précoce, floraison précoce, durée courte entre l'émergence et la fructification, reproduction sexuée et asexuée, pollinisable par différents vecteurs), à se disperser (graines petites et nombreuses, dispersion des graines à courte et grande distance) et adaptée aux environnements perturbés (dormance et longue durée de vie des graines) (Harlan et De Wet, 1965 ; Baker, 1974 ; Kleyer, 1999 ; Lososova et al., 2006, 2008). Ces caractéristiques correspondent globalement à une stratégie rudérale, adaptée aux milieux fertiles et

fréquemment perturbés (Grime, 1977, 1997). Néanmoins, les adventices présentent un continuum de stratégies (Gunton et al., 2011 ; Lososova et al., 2008) entre une stratégie totalement rudérale et une stratégie totalement compétitive (Grime, 1977, 2001). La stratégie rudérale est caractérisée par des exigences nutritionnelles élevées, un cycle court (caractérisé par un fort taux de croissance, une petite taille et une floraison précoce) et un fort investissement dans la reproduction (production d'un grand nombre de petites graines, maintenant leur capacité germinative sur une longue période). La stratégie compétitive est caractérisée également par un fort taux de croissance mais aussi par un investissement plus important dans les structures végétatives (mode de vie vivace, une grande production de biomasse, une floraison tardive) que dans la reproduction (production d'un petit nombre de grosses graines).

3.2 Déterminants de l'abondance et de la composition de la communauté adventice

L'abondance et la composition des communautés d'adventices est déterminée d'une part, par les perturbations qui détruisent régulièrement, au-moins partiellement, les communautés végétales des agroécosystèmes et d'autre part, par la disponibilité en ressources qui conditionne l'importance et l'intensité de la compétition (Gaba et al., 2014) (Figure 3.1). Après une perturbation, de nouveaux individus peuvent entrer dans l'agroécosystème à partir de la banque de graines, qui peut être vieille de plusieurs années (Forcella et al., 1992 ; Webster et al., 2003). La composition de la communauté d'adventices dépend donc de l'historique de la parcelle, la composition de la banque de graines dépendant principalement des trois cultures précédentes (Bohan et al., 2011).

Les facteurs qui influent les communautés d'adventices peuvent être divisés en trois catégories (Navas, 2012) : les conditions locales (climat, météorologie, type de sol, structure du paysage), les pratiques culturales (herbicides, travail du sol, fertilisation) et les facteurs biotiques (culture, pathogènes et ravageurs, microorganismes). Les conditions locales influent sur le pool d'espèces présentes et leur capacité de dispersion, donc sur l'abondance et la composition de la banque de graines. Elles peuvent également modifier la disponibilité en ressources (par exemple, en fonction de la pluviométrie ou de la fertilité du sol). Les pratiques agricoles sont sources de perturbations qui détruisent régulièrement tout ou partie de la communauté d'adventices mais modifient également la disponibilité en ressources. Parmi les facteurs biotiques, la culture, qui entre en compétition avec les adventices, et les microorganismes, qui contrôlent la disponibilité en nutriments dans le sol (Reynolds et al., 2003 ; Smith et al., 2009), modifient la disponibilité en ressources.

Dans les communautés végétales, les perturbations agissent comme des filtres qui en éliminent les espèces présentant des caractéristiques fonctionnelles ou des stratégies écologiques incompatibles

avec la perturbation (« *habitat filtering* ») (Booth et Swanton, 2002 ; Cornwell et al., 2006 ; Garnier et Navas, 2012). Seules peuvent s'installer dans la communauté les espèces qui peuvent soit à survivre à la perturbation, soit se régénérer après la perturbation, soit l'éviter dans le temps et dans l'espace. Cette élimination conduit à une modification de la distribution des traits fonctionnels par rapport au pool local d'espèces, qui conduit généralement à une convergence des traits fonctionnels des plantes (Grime, 2006 ; Garnier et Navas, 2012).

Une caractéristique importante des perturbations est leur régime (date, fréquence, retour ou non de la perturbation à la même date sur plusieurs années) (Gaba et al., 2014). Les perturbations dans les agroécosystèmes ne se produisent pas à des dates aléatoires mais sont très liées à la phénologie de la culture et se produisent principalement au début (travail du sol, herbicides) et à la fin de son cycle (moisson). Par exemple, les adventices capables de réaliser leur cycle intégralement à l'intérieur de celui de la culture sont plus susceptibles de se reproduire car elles évitent les perturbations se produisant avant la mise en place et après la récolte de la culture. Alternativement, les espèces d'adventices capables de germer et de fleurir à des dates variables sur des périodes de temps longues sont plus susceptibles de voir certains de leurs individus se reproduire dans un environnement où les dates des perturbations varient d'année en année (Fried et al., 2010, 2012).

La composition de la communauté dépend également de l'intensité de la compétition qui élimine les individus les moins compétitifs (Poggio, 2005 ; Berger et al., 2008). Deux théories ont été développées quant à l'effet de la compétition sur la composition des communautés végétales. La théorie de la « *limiting similarity* » (MacArthur et Levins 1967) postule qu'en situation de compétition, seules peuvent coexister les espèces qui occupent des niches écologiques différentes, conduisant à une augmentation de la diversité des traits fonctionnels impliqués dans l'acquisition des ressources limitantes. A l'opposé, la théorie de la « *hiérarchie des traits* » postule que seules les espèces présentant les traits fonctionnels les plus adaptés pour l'acquisition des ressources limitantes peuvent être présentes, conduisant ainsi à une réduction de la diversité des traits fonctionnels (Kunstler et al., 2012). Les études les plus récentes tendent à montrer que la théorie de la « *hiérarchie des traits* » est la plus à même de décrire les communautés végétales (Navas et Fayolle, 2012 ; Kunstler et al., 2012 ; Fort et al., 2014). Ainsi, les cultures les plus compétitives semblent abriter des adventices avec une gamme de niches plus étroite (Gunton et al., 2011).

La nature des mécanismes contrôlant la composition des communautés (« *habitat filtering* », « *limiting similarity* », « *hiérarchie des traits* »), en sélectionnant les individus sur leurs traits fonctionnels, entraîne un découplage plus ou moins fort de la diversité taxonomique et de la diversité fonctionnelle. Pour une même diversité spécifique, une communauté dans laquelle perturbations et compétition ont conduit à une convergence des traits fonctionnels présentera une diversité fonctionnelle plus faible

qu'une communauté dans laquelle la compétition aura conduit à une divergence des traits fonctionnels (Mouillot et al., 2007).

3.3 La compétition avec la culture : une fonction écosystémique réalisée par les adventices

Les interactions entre les plantes cultivées et les adventices sont nombreuses, et peuvent être positives, négatives ou neutres pour la culture. Certains effets des adventices sur le fonctionnement de l'agroécosystème peuvent être positifs pour la production agricole. Certaines adventices peuvent fixer de l'azote et servir d'habitat ou de ressources nutritives pour des microorganismes, des insectes et des oiseaux dont certains sont bénéfiques pour la culture (symbiontes, pollinisateurs, prédateurs de ravageurs) (Wilson et al., 1999 ; Zimdahl, 2007 ; Franke et al., 2009). Les adventices pouvant également être des hôtes pour des ravageurs ou des agents pathogènes de la culture, elles peuvent aussi limiter les attaques sur la culture, si l'adventice est un hôte privilégié (Norris et Kogan, 2000).

Les interactions négatives ont été plus largement étudiées (Zimdahl, 2007 ; Mézière et al., 2015), en lien avec la production agricole. En effet, les adventices peuvent parasiter la culture, produire des substances allélopathiques ou servir de refuge pour des agents pathogènes et des ravageurs. Cependant, la compétition qu'exercent les adventices pour l'acquisition des ressources est généralement considérée comme la principale cause de la perte de rendement (Oerke, 2006). Ces effets négatifs des adventices sur la culture sont qualifiés par les agronomes de nuisibilité primaire directe. Les adventices sont également responsables de nuisibilités qui ne sont pas liées à leurs interactions avec la culture. La nuisibilité indirecte concerne les complications du travail agricole qu'elles provoquent en diminuant la qualité de la récolte, en augmentant les coûts de production, en diminuant l'efficacité des engins agricoles lors de leurs interventions et en produisant des toxines ou des allergènes (Zimdahl, 2007). La nuisibilité secondaire est liée à la capacité des adventices à se disperser dans l'espace et dans le temps, en constituant des stocks de semences dont la persistance de la capacité germinative s'étale sur plusieurs années (Caussanel, 1989). Il s'agit d'une nuisibilité potentielle entraînant des contraintes sur le choix des cultures et des pratiques agricoles à l'échelle de la rotation.

La compétition est une des principales fonctions écosystémiques par lesquelles les adventices exercent leur nuisibilité vis-à-vis des cultures. La compétition peut être définie ainsi : « *Competition occurs when each of two or more organisms seeks the measure it wants of any particular factor or thing and when the immediate supply of the factor or thing is below the combined demand of the organisms* » (Donald, 1963). La compétition entre plantes s'exprime vis-à-vis de la lumière, l'eau et les nutriments. Les plantes sont souvent en compétition pour plusieurs de ces ressources à la fois, ce qui entraîne des interactions entre l'acquisition des différentes ressources (Zimdahl, 2007). Si une plante peut fixer plus

de carbone, elle va pouvoir investir plus dans son système racinaire et avoir accès à plus de ressources du sol. De même, un accès à plus d'azote lui permet de construire plus de feuilles et de d'augmenter l'assimilation nette de carbone (Corre-Hellou et al., 2006). La compétition n'existe pas toujours dans les communautés végétales, elle n'apparaît que lorsque la ressource devient limitante. Par exemple, la compétition pour la lumière n'apparaît qu'à la fermeture du couvert. Lorsque la ressource devient limitante, la compétition se produit simultanément pour toutes les plantes, à la fois entre cultures et adventices mais également entre adventices.

A l'échelle de l'individu, la performance d'une plante en situation de compétition, aussi appelée aptitude compétitive, dépend de deux caractéristiques indépendantes (Goldberg, 1990) : 1/ la capacité à résister à la compétition, en continuant à se développer à de bas niveaux de ressources (la réponse compétitive) et, 2/ la capacité à acquérir les ressources et à réduire la croissance des autres organismes (l'effet compétitif).

A l'échelle de la communauté végétale, la compétition peut être décrite par son intensité qui se traduit par une réduction de croissance plus ou moins forte des organismes en compétition et par son importance relativement à d'autres facteurs environnementaux susceptibles d'influencer la production de biomasse (Navas et Fayolle, 2012 ; Welden et Slauson, 1986).

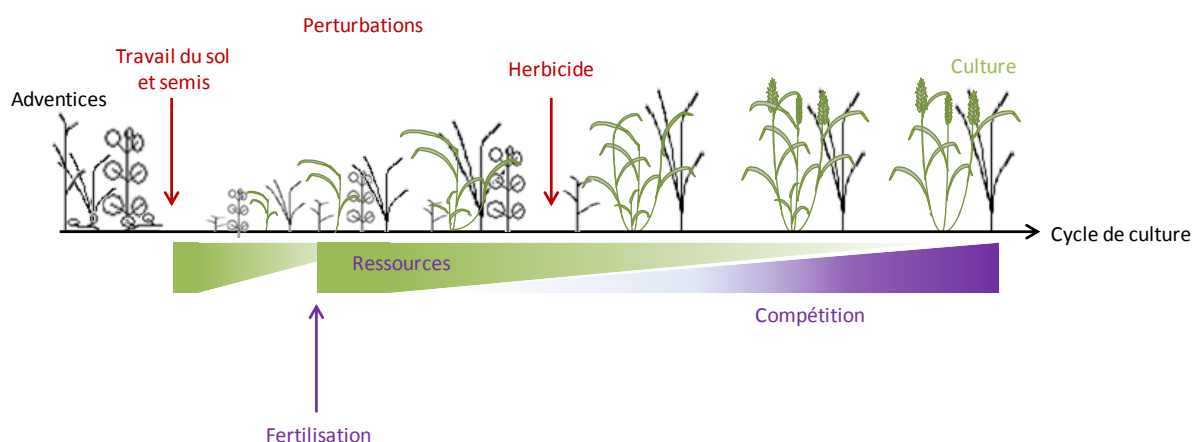


Figure 3.1 Les perturbations et la compétition, deux déterminants de la composition des communautés d'adventices

3.4 Déterminants de la compétition

3.4.1 Traits fonctionnels impliqués dans l'aptitude compétitive des plantes

Des traits fonctionnels différents peuvent être impliqués dans les deux composantes de l'effet compétitif, l'effet et la réponse compétitives (Navas et Violle, 2009) (Tableau 3.1). Néanmoins

beaucoup d'études montrent une corrélation positive entre l'effet compétitif et la réponse compétitive chez les céréales (Worthington et Reberg-Horton, 2013), et cette situation se retrouve dans le Tableau 3.1 où plusieurs traits fonctionnels, essentiellement impliqués dans l'acquisition de la lumière, sont liés à la fois à l'effet compétitif et à la réponse compétitive.

Dans le cas de la compétition pour la lumière, l'effet compétitif est lié au diamètre de la canopée, à la surface de feuilles, à la distribution des feuilles dans l'espace (la concentration des feuilles au sommet est plus favorable), aux angles foliaires (les feuilles planes sont plus favorables) et, dans le cas des graminées, au nombre de talles (Gaudet et Keddy, 1988 ; Weigelt, 2002 ; Efthimiadou et al., 2009 ; Asif et al., 2014 ; Tang et al., 2014 ; Tableau 3.1). Dans l'ensemble, la hauteur mesurée en situation de compétition est un indicateur intégratif de l'effet compétitif des plantes car elle est corrélée à la variation d'un ensemble de traits architecturaux liés à l'interception de la lumière (Navas et Fayolle, 2012 ; Violle et al., 2009). L'effet compétitif pour l'eau est lié à la profondeur d'enracinement (Violle et al., 2009). Les traits morphologiques impliqués dans l'effet compétitif pour les nutriments sont, dans l'état actuel des connaissances, méconnus (Andrew et al., 2015). Mais il ne suffit pas de posséder une grande taille ou une grande surface de feuilles pour acquérir les ressources à la place des autres, il faut être capable de mettre en place ces organes avant le début de la compétition. La capacité à croître et à intercepter la lumière dans les semaines ou les mois qui suivent l'émergence est ici décisive. Les plantes à stratégie plutôt rudérale, faisant preuve de vigueur précoce, qui poussent vite en début de cycle, obtiennent un avantage décisif dans l'accès à la lumière sur les plantes poussant plus tard. Les tailles relatives du maïs et de ses adventices en début de saison sont par exemple un bon indicateur de la perte du rendement du maïs en fin de cycle (McDonald et al., 2010). Ceci explique le lien entre fort taux de croissance en début de cycle et compétitivité observée chez les plantes cultivées (Lemerle et al., 2001 ; Kruidhof et al., 2008).

La réponse compétitive peut-être mesurée par la manière dont la plante modifie sa physiologie et son architecture (plasticité phénotypique) pour répondre à une diminution de la disponibilité en ressources (Goldberg, 1990). Les adventices répondent à la limitation de la lumière par une augmentation de la proportion de surface foliaire dans la partie supérieure de la plante, par une diminution de la respiration, une diminution du ratio parties racinaires/parties aériennes, une diminution de la densité foliaire, et une augmentation des tissus de structure (tiges et pétioles) (McLachlan et al., 1993 ; Stoller et Meyers, 1989 ; Dutoit et al., 2011). La surface foliaire spécifique (SLA, surface foliaire/masse sèche) augmente également en fonction de la disponibilité en lumière (Violle et al., 2009 ; Fila et Sartorato, 2011). Il ressort du Tableau 3.1 que le fait d'avoir un SLA élevé et une faible teneur foliaire en matière sèche (LDMC, masse fraîche foliaire/masse sèche) permet aux

Tableau 3.1 Traits fonctionnels impliqués dans l'effet compétitif et la réponse compétitive chez plusieurs espèces. L'effet compétitif est mesuré par la réduction de biomasse produite induite sur une autre plante. La tolérance à la compétition est mesurée par la réduction de rendement ou de biomasse de la plante produite par la compétition

Traits fonctionnels liés à un fort effet compétitif		
Référence	Plante	Traits explicatifs
Aminpanah et al., 2013	adventices (sur colza)	biomasse
Singh et Singh, 2012	5 adventices (du riz)	Fort SLA, faible LDMC
Den Hollander et al., 2007	trèfles	hauteur
Caton 2001	adventices	hauteur, feuilles planes, distribution des feuilles pas conique
Lemerle et al., 2001	blé	hauteur, vigueur précoce, capacité d'ombrage
Kruidhof et al., 2008	6 espèces cultivées	interception de la lumière en début de cycle
Deveikyte et al., 2008	5 céréales	hauteur
Mason et al., 2007	blé	hauteur, maturité précoce
Stevanato et al., 2011	betterave	densité de longueur racinaire
Goldberg et Landa, 1991	7 espèces cultivées ou adventices	grosse graine, grande biomasse, fort taux de croissance
Torner et al., 2000	4 adventices	poids d'une graine

Traits fonctionnels liés à une forte tolérance à la compétition (réponse compétitive)		
Référence	Plante	Traits explicatifs
Cosser et al., 1997	blé	hauteur
Dingkuhn et al., 1999	riz	LAI, SLA, tallage
Lemerle et al., 2001	blé	maturité précoce
Jennings et Aquino, 1968	riz	nombre de talles et de feuilles, surface foliaire, LAI, hauteur, biomasse
Mason et al., 2007	blé	vigueur précoce
Moukoubi et al., 2011	riz	SLA
Mohammadi, 2007	maïs	SLA, taux de croissance
Singh et Ram, 2012	blé	hauteur, surface foliaire, nombre de talle
Torner et al., 2000	4 adventices	biomasse, surface foliaire en début de croissance
Dunbabin, 2007	8 espèces cultivées	espacement des racines, taux de croissance racinaire
Violle et al., 2009	brome	SLA, potentiel hydrique foliaire
Goldberg et Landa, 1991	7 espèces cultivées ou adventices	faible taux de croissance
Didon, 2002	orge	faible angle foliaire, vigueur précoce

plantes de mieux supporter la compétition, même si ce phénomène a été observé chez un nombre très réduit d'espèces (brome, maïs, riz et adventices du riz). Un SLA élevé est lié à un plus faible coût de construction des feuilles et une meilleure aptitude à intercepter la lumière et assimiler le carbone en conditions d'éclairage réduit (Singh et Singh, 2012 ; Storkey, 2005, 2004). De plus, plus l'intensité lumineuse est faible et plus le SLA est un bon indicateur du taux de croissance (Shipley, 2006). Pour ce qui est de la compétition pour les nutriments, la densité de longueur racinaire (longueur racinaire/volume de sol) (Fargione et Tilman, 2006) et la capacité à augmenter sa longueur spécifique racinaire (SRL, longueur racinaire/masse racinaire) en réponse à la déficience en nutriments (Fort et al., 2014), sont positivement corrélés à la réponse compétitive chez les plantes prairiales. Les plantes avec un taux de croissance faible ont généralement de meilleures réponses à la compétition (Goldberg et Landa, 1991). La maturité précoce est également une manière de répondre à la compétition en limitant sa durée (Lemerle et al., 2001).

En résumé, un effet compétitif important est lié à une grande taille et une grande étendue latérale, à une forte biomasse et à un fort taux de croissance en début de cycle. Une réponse compétitive importante est liée à une forte plasticité phénotypique, un fort SLA, un taux de croissance faible ou à une maturité précoce. Cependant, il existe des compromis entre les valeurs prises par les différents traits fonctionnels. Par exemple, un fort taux de croissance des parties aériennes est positivement corrélé au SLA, au SRL et à la teneur des feuilles en azote mais est négativement corrélé à la taille des graines, à la surface foliaire initiale à l'émergence et à la fraction des racines dans la biomasse (Seibert et Pearce, 1993 ; van der Werf et al., 1993 ; Storkey, 2006). En raison de ces compromis entre traits fonctionnels, il est possible de regrouper les adventices en groupes. Storkey (2006) répartit les adventices en sept groupes fonctionnels en fonction de cinq traits fonctionnels : forme de vie (annuelle ou pérenne), date de germination, hauteur maximum, date de floraison et masse des graines (Figure 3.2). Chacun de ces groupes possède des aptitudes variées pour la compétition avec la culture. Ainsi les groupes 1 (automnales, grosses graines, grande taille), 2 (automnales, petites graines, grande taille) et 7 (pérennes) possèdent une grande capacité compétitive avec les céréales d'hiver. Les groupes 3 à 6 (automnales de petite taille et printanières) sont peu compétitifs avec les céréales d'hiver

3.4.2 Déterminants de la compétition à l'échelle de la communauté

La compétitivité d'une plante dépend de ses traits fonctionnels mais la compétition est un processus qui dépend des valeurs de traits et des aptitudes compétitives de l'ensemble des individus en compétition directe. La théorie des niches écologiques postule que plus des individus exploitent des ressources semblables (par exemple, ils ont besoin de la même intensité lumineuse ou de la même

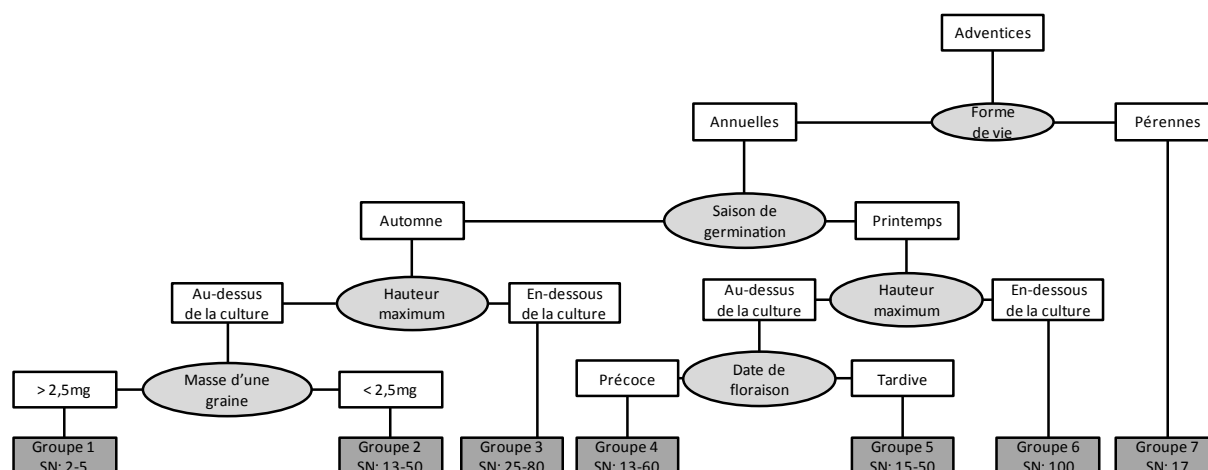


Figure 3.2 Classification des adventices en sept groupes fonctionnels en fonction de leurs traits fonctionnels (modifié d'après Storkey, 2006 avec la permission de Wiley & Sons). SN : seuil de nuisibilité (individus/m²) dans le blé d'hiver

composition spectrale de la lumière), plus ils sont susceptibles d'entrer en compétition (Hutchinson, 1957 ; Vandermeer, 1972 ; Silvertown, 2004). En d'autres termes, plus leurs niches écologiques se chevauchent plus ils sont en compétition. Or, des individus qui présentent des valeurs proches pour les traits fonctionnels liés à l'acquisition des ressources subsistent *a priori* sur des ressources similaires et partagent des niches se chevauchant (Rosenfeld, 2002 ; Mouillot et al., 2005 ; McGill et al., 2006 ; Kearney et al., 2010). La compétition entre culture et adventices devrait donc dépendre non seulement de l'identité fonctionnelle de la communauté d'adventices mais également de la ressemblance fonctionnelle entre la communauté d'adventices et la culture (Smith et al., 2009). Plus les niches fonctionnelles de la culture et des adventices se chevauchent, plus la compétition devrait être intense. A notre connaissance, cette théorie n'a pas été confirmée dans les agroécosystèmes. Néanmoins, Navas et Fayolle (2012) ont montré en prairie que l'importance de la compétition est positivement corrélée à la similitude de taille des différentes plantes. Ces phénomènes devraient théoriquement se produire également pour la compétition entre espèces d'adventices mais il existe très peu d'informations sur la compétition entre adventices. Les travaux de Petit et Fried (2012) ont néanmoins montré que les adventices pérennes, plus compétitives, excluent les adventices annuelles. La ressemblance des niches fonctionnelles entre les plantes est en partie contrôlée par les perturbations qui favorisent la convergence ou la divergence des niches (Garnier et Navas, 2012).

L'intensité de la compétition serait alors déterminée par la ressemblance fonctionnelle entre les différentes plantes impliquées mais également par la quantité et la diversité des ressources. Les différentes espèces de plantes ont des taux de croissance maximaux pour des teneurs en ressources (lumière ou nutriments) différentes. Par exemple, *Senecio vulgaris* atteint son taux de croissance

maximal à 40 mgN minéral / kg sol, *Fallopia convolvulus* à 80 mgN minéral / kg sol et *Amaranthus retroflexus* au-delà de 180 mgN minéral / kg sol (Blackshaw et al., 2013). A titre de comparaison, dans la même étude la teneur optimale pour le blé était de 80 mgN minéral / kg sol et celle du colza supérieure à 120 mgN minéral / kg sol. Les plantes se trouvant en présence de ressources leur permettant d'atteindre leur taux de croissance maximal gagnent un avantage en terme de compétitivité (Pysek et Leps, 1991 ; Pysek et al., 2005b). Par exemple, les adventices possédant les stratégies les plus rudérales ont souvent des taux de croissance maximaux supérieures à ceux de la culture mais ne peuvent les atteindre qu'à des teneurs en azote et phosphore minéraux supérieures à celles dont la culture a besoin pour atteindre son taux de croissance maximal (DiTomaso, 1995 ; Blackshaw et al., 2003). Certaines espèces sont plus affectées par la disponibilité en azote, d'autres par l'accès à la lumière. Les espèces rudérales, de petites tailles et rampantes, sont plus affectées par la compétition pour la lumière. Les espèces compétitives, de grandes tailles ou grimpantes, capables d'atteindre la lumière, sont plus influencées par la disponibilité en azote (Pysek et Leps, 1991).

Les effets potentiels de la diversité des ressources en nutriments sur la compétition sont résumés dans la « *resource pool diversity hypothesis* » (Smith et al., 2009). La diversité des ressources disponibles définit la niche potentielle de la communauté (Salles et al., 2009 ; von Felten et al., 2009), à l'intérieur de laquelle les différentes espèces peuvent réaliser leur niche écologique. Les plantes n'ont pas intérêt à entrer en compétition en raison du coût de l'interaction et tentent autant que possible de l'éviter grâce à leur plasticité phénotypique (Novoplansky, 2009). Ce phénomène est particulièrement vrai pour les adventices qui présentent une grande plasticité phénotypique (Clements et al., 2004). La présence d'une diversité de ressources nutritives dans les sols accessibles à des plantes différentes est basée sur l'idée que chaque plante peut accéder à des ressources différentes en développant dans sa rhizosphère une communauté microbienne particulière qui lui permet d'accéder à des ressources spécifiques, présentes sous forme organique ou minérales (« *microbial-mediated resources hypothesis* » ; Reynolds et al., 2003). Plus la diversité de ressources dans le sol est importante, plus les plantes peuvent donc éviter la compétition, en se développant sur des ressources différentes (Smith et al., 2009 ; Figure 3.3) ce qui va diminuer la ressemblance fonctionnelle entre la culture et ses adventices.

Les espèces végétales possèdent des aptitudes variables à éviter la compétition. Certaines espèces sont généralistes, elles peuvent exploiter plusieurs niveaux de ressources ou substituer une ressource à une autre (par exemple, capables d'acquérir des acides aminés, du NH_4^+ ou du NO_3^- pour répondre à ses besoins en N (McKane et al., 2002 ; Reynolds et al., 2003) ; capables de pousser indifféremment à plusieurs niveaux d'intensité lumineuse (Sultan et al., 1998)) tandis que d'autres sont spécialistes, elles ne peuvent survivre qu'à un niveau ou sur une ressource donnée. Les généralistes sont donc plus à

même d'éviter la compétition en subsistant sur les ressources pour lesquelles la compétition est moins intense. La compétition culture-adventices devrait donc être plus intense en présence d'adventices spécialistes de la culture, qui lui ressemblent fonctionnellement, qu'en présence d'adventices généralistes (Bowers et Harris, 1994).

3.5 Effet des pratiques agricoles sur les communautés d'adventices et la compétition culture-adventices

Les pratiques agricoles sélectionnent les adventices en fonction de leurs traits fonctionnels (Fried et al., 2012). Parmi les pratiques agricoles ayant un effet sur la communauté d'adventices, sont identifiés la saison et la date de semis, le travail du sol, le niveau de fertilisation ou l'utilisation d'herbicides (Tableau 3.2). Ces pratiques sont très liées à l'espèce ou à la variété cultivée et contribuent à l'effet de l'espèce cultivée observé dans plusieurs études. Le précédent cultural joue également un rôle mais est secondaire par rapport aux facteurs de l'année en cours. Il n'est pas facile d'établir l'importance relative des différents facteurs, ceux-ci variant entre les études et étant confondus dans l'effet de l'espèce cultivée. De plus, certains facteurs interagissent entre eux, par exemple le labour en enfouissant les résidus permet une meilleure efficacité des herbicides dont l'action serait sinon limitée (Cardina et al., 2002 ; Tiesca et Puricelli, 2007).

3.5.1 Effet des plantes cultivées

L'espèce cultivée a un effet fort sur l'abondance et la composition taxonomique des adventices (Fried et al., 2008a, 2008b ; Smith et al., 2008 ; Shrestha et al., 2002 ; Andersson et Milberg, 1998). Par exemple, dans une étude menée dans l'est de la Pologne, la densité d'adventices était maximale dans les cultures racines (betteraves et pommes de terre), minimale dans les prairies artificielles et intermédiaire dans les céréales de printemps ou d'hiver (Jastrzebska et al., 2013). Des résultats différents ont été observés à l'échelle de la République Tchèque, avec une richesse spécifique minimale dans le seigle, le maïs et le blé, intermédiaire dans l'orge, le colza et les légumineuses fourragères et une richesse maximale dans les cultures racines (Pysek et al., 2005b).

L'effet de la plante cultivée sur les communautés d'adventices est complexe car il associe à la fois des pratiques agricoles liées à la culture, qui agissent comme des filtres (date de semis, familles d'herbicides utilisables, besoin en fertilisants), et des facteurs proprement liés à l'espèce (architecture, biomasse, allélopathie, capacité compétitive) qui agissent plutôt en modifiant la disponibilité en ressources, et donc l'intensité de la compétition. Un bon exemple de pratique agricole liée à la culture

Tableau 3.2 Importance relative des facteurs liés à la culture pour la composition de la communauté d'adventices

Référence	variable étudiée	facteurs par ordre d'importance	types de cultures	type d'études	Etude pluriannuelle
Hanzlik et Gerowitt, 2011	composition taxonomique	précédent cultural>intensité du travail du sol	colza	relevé régional	oui
Fried et al., 2008a	composition taxonomique	saison de semis> espèce cultivée>précédent cultural	annuelles	relevé régional	oui
Fried et al., 2008a	richesse spécifique	profondeur du travail du sol>saison de semis>précédent cultural	annuelles	relevé régional	oui
Andreasen et Skovgaard, 2009	composition taxonomique	annuelle/pérenne>saison de semis	annuelles et pérennes	relevé régional	oui
Cirujeda et al., 2011	composition taxonomique	espèce cultivée>irrigation>herbicide	céréales	relevé régional	oui
Leeson et al., 2000	composition taxonomique	% pérennes dans la rotation>herbicide	annuelles et pérennes	relevé régional	oui
Kolarova et al., 2013	richesse spécifique	organic/conventionnel>espèce cultivée	céréales et cultures en rang	relevé régional	oui
Grundy et al., 2011	richesse spécifique, composition taxonomique	travail du sol>herbicides	légumes	expérimentation au champ	oui
Hyvonen et Salonen, 2002	diversité spécifique	espèce cultivée>herbicide>fertilisation	annuelles et pérennes	expérimentation au champ	oui
Hyvonen et Salonen, 2002	composition taxonomique	culture>herbicide>fertilisation	annuelles et pérennes	expérimentation au champ	oui
Gibson et al., 2013	composition taxonomique	région géographique>espèce cultivée	annuelles	relevé régional	non
Derksen et al., 1995	composition taxonomique	herbicide>travail du sol	annuelles	expérimentation au champ	non
Cardina et al., 2002	densité de graines	rotation>travail du sol	annuelles et pérennes	expérimentation au champ	oui
Andersson et Milberg, 1998	composition taxonomique	site>espèce cultivée> fertilisation> rotation	annuelles et pérennes	expérimentation au champ	non
Ryan et al., 2010	composition taxonomique de la banque de graines	herbicide>travail du sol, fertilisation	annuelles	expérimentation au champ	oui

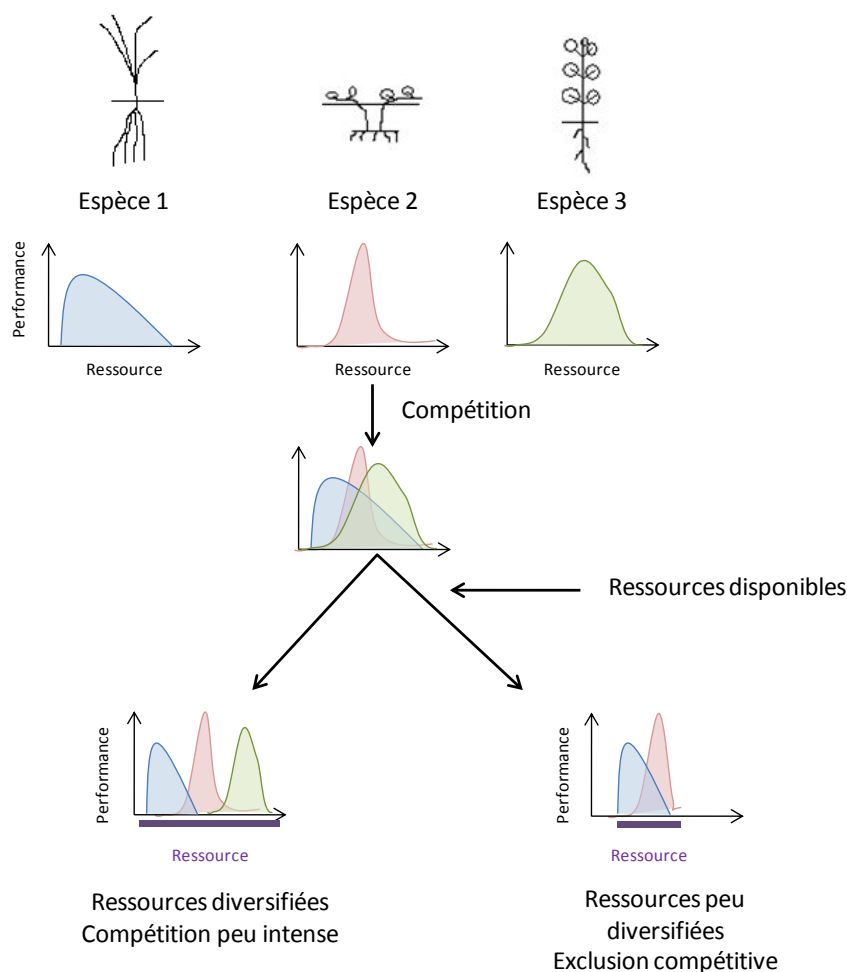


Figure 3.3 Intensité de la compétition en fonction des niches écologiques des espèces et de la diversité des ressources présentes

modifiant fortement les communautés d'adventices est l'élimination mécanique des adventices des inter-rangs des cultures sarclées (Liebman et Dyck, 1993). D'autres effets, indirects, peuvent être liés aux ravageurs de la culture qui se nourrissent également des adventices (Norris et Kogan, 2000). Le facteur lié à la culture le plus important pour la composition taxonomique et fonctionnelle de la communauté d'adventices semble être le statut de pérenne ou d'annuelle (Meiss et al., 2010b ; Andreasen et Skovgaard, 2009) suivi de la date ou de la saison de semis (Gunton et al., 2011 ; Meiss et al., 2010b ; Andreasen et Skovgaard, 2009 ; Tableaux 3.3 ; Figure 3.4).

Les cultures pérennes ont une faible densité d'adventices et sont pauvres en espèces. Beaucoup de ces espèces sont pérennes (par exemple, *Taraxacum officinalis*) ou en rosette (par exemple, *Sonchus asper*) (Meiss et al., 2010b). Les cultures pérennes favorisent également les espèces annuelles à cycle très court (par exemple, *Capsella bursa-pastoris*). Cet effet est probablement largement dû à la fauche régulière des cultures pérennes qui favorise les espèces capables de repousser après la fauche (pérennes) ou d'échapper à la fauche (rosettes, annuelles capables de réaliser leur cycle entre deux

fauches) (Meiss et al., 2008). L'absence de labour pourrait également favoriser les espèces pérennes (voir ci-dessous, paragraphe 3.5.5).

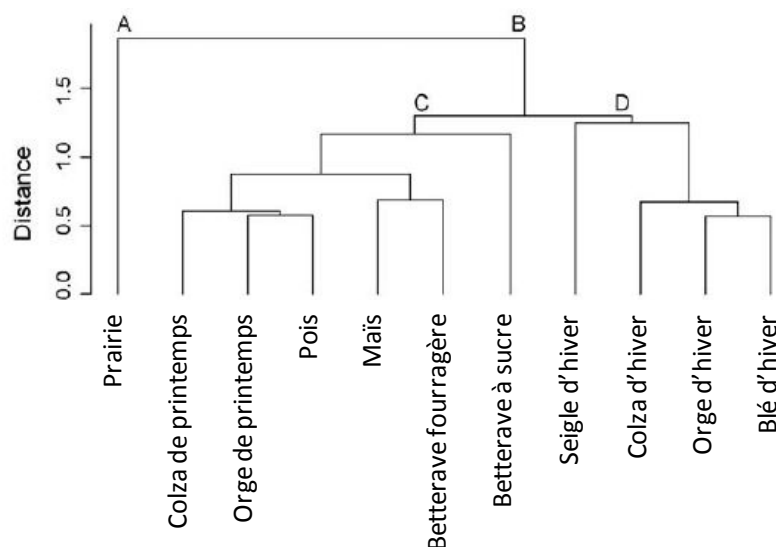


Figure 3.4 Classification des cultures en fonction de la composition spécifique de la communauté d'adventices au Danemark (modifié d'après Andreassen et Skovgaard, 2009, avec la permission d'Elsevier)

La date de semis est une composante importante de l'effet de l'espèce cultivée. L'importance de la date de semis découle de la destruction de la communauté préexistante et de la stimulation de la germination par les activités de travail du sol précédant le semis. D'autre part, la période de faible compétition avec la culture qui suit le semis est cruciale pour l'établissement des populations d'adventices. Une différence d'émergence de seulement quelques jours peut avoir des conséquences importantes sur le résultat de la compétition (Pollnac et al., 2009 ; Page et Willenborg, 2013 ; O'Donovan et al., 1985), modifiant la composition de la communauté et le phénotype des adventices (Gunton et al., 2011 ; Barberi et al., 2002). Par exemple, chez la pomme de terre, les plantes qui émergent après 80% de fermeture de la canopée n'ont que très peu d'effet sur le rendement de la pomme de terre (Ahmadvan et al., 2009). Les adventices qui ne s'implantent pas dans les premières semaines de la culture se retrouvent sous le couvert de la culture et doivent posséder des stratégies particulières de tolérance à l'ombre (par exemple, *Viola arvensis*) ou pour atteindre la lumière (grande taille, par exemple *Elytrigia repens*, grimpantes, par exemple *Fallopia convolvulus*) (Lososova et al., 2008).

Les cultures peuvent être regroupées en fonction de leur saison de semis (automne (céréales d'hiver, colza), printemps (céréales de printemps, pois) ou été (maïs, tournesol) ; Bohan et al., 2011 ; Fried et al., 2008a ; Gaba et al., 2014), chaque saison de semis favorisant une communauté d'adventices particulière dont la période de germination correspond avec celle du semis (Hallgren et al., 1999). Ainsi la date de semis du blé est positivement corrélée avec les dates de début de germination et de floraison des espèces adventices présentes dans le blé (Fried et al., 2012). Les adventices des cultures semées tard en automne ou semées au printemps ont plus souvent des graines rondes et une période d'émergence courte, contrairement aux adventices des cultures semées tôt à l'automne. Ces traits sont couplés à une dormance longue qui leur évite de germer avant le semis ou dans une culture déjà bien établie (Colbach et al., 2014). La forme des graines et leur dormance ayant des relations complexe avec la compétitivité (Grundy et al., 2003 ; Volis et Bohrer, 2013), il est difficile de prédire s'il existe des différences de compétitivité entre adventices d'automne et de printemps. Enfin, les communautés d'adventices émergeant au printemps ont une plus grande richesse spécifique que les communautés émergeant à l'automne (Pysek et al., 2005b).

L'effet de l'architecture de la plante cultivée sur la communauté d'adventices a été moins étudié que mais semble avoir un impact plus faible que la date et la saison de semis (Gunton et al., 2011). Les traits liés à l'architecture aérienne qui ont un effet sont ceux liés à la compétition pour la lumière comme la hauteur, la biomasse aérienne et la densité. L'architecture et la hauteur de la culture ont un effet sur les dates de germination et de floraison, la hauteur (Albrecht et Auerswald, 2009 ; Gunton et al., 2011 ; Pysek et al., 2005a) et les stratégies des adventices, avec des stratégies plus rudérales dans les cultures de type graminoides (la majorité des céréales), des stratégies plus compétitives sous les cultures en rosette (colza, betterave, trèfle) et des stratégies intermédiaires sous les cultures à tige unique (maïs, tournesol, soja, sorgho, fève, lin) (Gunton et al., 2011). Dans une des rares études portant sur l'architecture racinaire, les adventices de la betterave étaient moins nombreuses dans les parcelles cultivées avec des variétés produisant une plus grande densité de racines (Stevanato et al., 2011).

3.5.2 Travail du sol

Le travail du sol réduit l'abondance des adventices en détruisant leurs parties aériennes et en fragmentant leurs systèmes racinaires (Myers et al., 2005). Comme explicité au paragraphe précédent, la date du travail du constitue un des facteurs importants de l'effet des plantes cultivées sur la composition des communautés d'adventices, cependant, le type de travail du sol (travail du sol avec retournement, travail sans retournement ou semis direct) joue également un rôle. Le travail du sol

détruisant préférentiellement les espèces vivaces et les monocotylédones, l'absence totale de travail du sol (semis direct) favorise les plantes vivaces, les espèces de grande taille, les monocotylédones et les espèces dispersées par le vent. A mesure que la profondeur du labour augmente, les dicotylédones sont favorisées par rapport aux monocotylédones, puis les annuelles par rapport aux pérennes (Tuesca et Puricelli, 2007 ; Zanin et al., 1997 ; Cardina et al., 2002 ; Grundy et al., 2011 ; Frick et Thomas, 1992 ; Fried et al., 2012 ; Froud-Williams et al., 1981). Le semis direct ou le travail du sol sans retournement entraînent une accumulation des graines dans les premiers centimètres du sol (Cardina et al., 2002 ; Ball et Miller, 1990) alors que les graines sont généralement distribuées de manière homogène dans les sols retournés (Cardina et al., 2002). Cette accumulation des graines en surface favorise leur germination mais aussi leur prédation (Ball et Miller, 1990 ; Martinez-Ghersa et al., 2000), ce qui favorise les espèces aux graines sans dormance ou à faible longévité, dispersées par le vent ou à germination stimulée par la lumière sont favorisées (McCloskey et al., 1996 ; Zanin et al., 1997 ; Barberi et al., 1998 ; Chauhan et al., 2006). En revanche, les graines enfouies par le labour ont une plus faible probabilité d'être victimes de prédation mais aussi une plus faible probabilité d'émergence (Ball et Miller, 1990), ce qui favorise les espèces dont les graines peuvent conserver leur capacité germinative plusieurs années (Albrecht et Auerswald, 2009 ; McCloskey et al., 1996). Ces graines sont souvent pauvres en lipides, ce qui limite leur germination (Colbach et al., 2014 ; Fried et al., 2012).

Le travail du sol réduit favorise les espèces à germination automnale (McCloskey et al., 1996) tandis que le travail du sol profond favorise les espèces à germination printanière, à période de germination longue et à floraison précoce car elles sont plus susceptibles d'éviter les perturbations et de s'adapter à des situations imprévisibles (McCloskey et al., 1996 ; Fried et al., 2012).

En résumé, le travail du sol profond et/ou fréquent favorise des espèces de petite taille, à petites graines et cycle court tandis qu'un travail du sol superficiel et/ou peu fréquent favorise des annuelles de grande taille, à grosse graines et cycle long ainsi que des vivaces (Fried et al., 2012). Les adventices favorisées par ce le travail du sol superficiel et/ou peu fréquent présentent des traits fonctionnels associés à une plus grande compétitivité que les adventices du travail du sol profond et/ou fréquent (Grime, 2001 ; Storkey, 2006).

3.5.4 Herbicides

Ainsi, la large utilisation d'herbicides ciblant les dicotylédones dans les rotations à base de céréales a transformé une communauté d'adventices autrefois dominée par les dicotylédones en communauté dominée par les monocotylédones (Cirujeda et al., 2011 ; Fryer et Chancellor, 1970). De même, les

Brassicacées sont surreprésentées dans le colza, les Amarantacées dans la betterave et les Astéracées dans le tournesol (Fried et al., 2010).

En tant que pratique agricole destinée uniquement au contrôle des adventices, les herbicides réduisent logiquement leur abondance (Grundy et al., 2011 ; Hald, 1999 ; Hyvonen et al., 2003). Certaines études montrent une diminution de la richesse spécifique et une augmentation de la dominance (Grundy et al., 2011 ; Hald, 1999 ; Mahn, 1984 ; Hyvonen et Salonen, 2002), proportionnelle à la dose d'herbicide utilisée (Grundy et al., 2011). D'autres études montrent une modification de l'abondance relative des espèces, sans disparition d'espèce ni diminution de la diversité spécifique (Derksen et al., 1995 ; Fryer et Chancellor, 1970 ; Hume, 1987 ; Hyvonen et al., 2003).

Le choix des familles d'herbicides, qui doivent éviter d'abîmer la culture, conduit à la surreprésentation des monocotylédones dans les cultures de céréales (Cirujeda et al., 2011 ; Fryer et Chancellor, 1970), la surreprésentation des Brassicacées dans le colza, des Amarantacées dans la betterave et des Astéracées dans le tournesol (Fried et al., 2010, 2015). Ces espèces étant similaires à la culture, elles sont susceptibles de faire preuve d'une plus grande compétitivité (Smith et al., 2009). Cependant, certaines espèces sensibles aux herbicides peuvent éviter la perturbation si leur période de germination commence après la période d'efficacité de l'herbicide (Grundy et al., 2011 ; Hyvonen et al., 2003). Ainsi, plus la pression des herbicides est forte, plus les adventices germent tard et ont une durée de floraison courte (Fried et al., 2012 ; Colbach et al., 2014).

3.5.6 Fertilisation

A la différence des herbicides et du travail du sol, la fertilisation ne constitue pas une perturbation, mais modifie le résultat de la compétition en modifiant la disponibilité en ressources. Les optima de croissance des adventices se trouvant généralement à des teneurs en nutriments supérieures à celles de la culture (DiTomaso, 1995 ; Blackshaw et al., 2003), une fertilisation excessive favorise les adventices au détriment de la culture (Liebman et Davis, 2000 ; Efthimiadou et al., 2009). Ainsi, l'augmentation de la fertilisation en Europe dans la deuxième moitié du XX^{ème} siècle a entraîné une régression des adventices adaptées aux sols pauvres et favorisé les adventices adaptées aux sols les plus riches, qui sont souvent des espèces à fort taux de croissance et à petites graines (Storkey et al., 2010 ; Fried et al., 2010). Ces espèces présentent les caractéristiques d'une stratégie rudérale, *a priori* peu compétitive (Liancourt et al., 2009).

4. La diversification des rotations, levier majeur de l'agroécologie

Pour répondre aux défis posés à l'agriculture dans le cadre de l'intensification écologique, il faut trouver des moyens de modifier les interactions entre organismes afin d'optimiser le fonctionnement de l'agroécosystème pour gérer la fertilité des sols et les populations d'adventices tout en diminuant le recours aux intrants issus des synthèses chimiques.

La composition des successions de culture peut être utilisée pour lutter contre les adventices ou maintenir la fertilité du sol dans le cadre de l'intensification écologique (Wezel et al., 2014). La composition des successions de culture est un déterminant majeur des ressources et des perturbations rencontrées par les microorganismes et les adventices, et peut donc modifier la structure de leurs communautés et en retour les fonctions écosystémiques dans lesquelles ils sont impliqués (compétition et décomposition/minéralisation de la matière organique). Une plus grande diversité de cultures dans la succession, en augmentant la diversité des matières organiques du sol et des perturbations est susceptible d'augmenter la diversité et le niveau des activités microbiennes impliquées dans la dégradation de la matière organique tout en diminuant la compétition qu'exercent les adventices vis-à-vis de la culture (Reynolds et al., 2003 ; Smith et al., 2009).

Parmi les possibilités de diversification des successions culturales, l'exemple le plus connu est l'introduction de légumineuses dans les rotations de céréales et colza. Les légumineuses présentent un bon potentiel pour diminuer les fertilisants minéraux et les herbicides tout en réduisant les impacts environnementaux de l'agriculture. Le pois (*Pisum sativum* L.) est la plus cultivée des légumineuses à graines, avec 66% des surfaces françaises (Schaller, 2012 ; Agreste, 2014) et semble être une bonne culture candidate pour jouer ce rôle.

La majorité des surfaces cultivées en pois protéagineux en France sont des surfaces de pois de printemps (UNIP, 2015). C'est une plante qui produit une faible biomasse aérienne (10-11T/ha ; Carrouée et al., 1999) et racinaire (Arcand et al., 2013b), une faible couverture du sol et présente une hauteur inférieure à celles des céréales ou du colza (40 à 70cm suivant les variétés ; Boizet et al., 2014). Le pois fixe au-cours de son cycle de développement de 47 à 130 kg N/ha, couvrant 54 à 60% de ses besoins (Peoples et al., 2009 ; Herridge et al., 2008). Le pois restitue une partie de cet azote au sol par rhizodéposition (6 à 40kg N/ha (Mayer et al., 2003b), principalement sous forme d'acides aminés et d'ammonium (Fustec et al., 2010) et une autre partie par l'enfouissement de résidus aériens et racinaires en fin de culture (40 à 44 kg N/ha (Evans et al., 2001)). Les rhizodépôts (Wichern et al., 2007a ; Jensen, 1996c) et les résidus (Soon et Arshad, 2002 ; Lupwayi et al., 2006 ; Kumar et Goh, 2002 ; Gan et al., 2011 ; Engstrom et Linden, 2012 ; Jensen, 1996b, 1997 ; Arcand et al., 2014) du pois

présentent des C/N plus bas que ceux des céréales). Le bilan après exportation des graines et enfouissement des résidus est généralement compris entre +10 et +20kg N/ha (Carrouée et al., 1999).

4.1 Effet du pois sur les communautés microbiennes du sol

Comme les autres plantes, le pois sélectionne certaines populations microbiennes au-cours de son développement (Kjoller et Rosendahl, 2001 ; Sharma et al., 2005 ; Yu et al., 2012). La communauté fongique est dominée par les Ascomycètes et par les espèces *Heliotales*, *Fusarium* et *Sistotrema*. Les mycorhizes représentent 5% de cette communauté et colonisent 10 à 20% des racines du pois. (Yu et al., 2012). La communauté bactérienne est dominée par des Actinobacteria et les Gammaproteobacteria (Sharma et al., 2005). Par ailleurs, le pois présente une communauté diversifiée de bactéries endophytes, fixatrices d'azote ou non, dans ses nodules et ses racines (Tariq et al., 2014 ; Narula et al., 2013).

En raison de ses rhizodépôts plus labiles et à plus faible C/N que ceux des céréales (Jensen, 1996c), le pois provoque une augmentation du turnover de l'azote dans la biomasse microbienne (Wichern et al., 2007a) sans provoquer d'augmentation de la biomasse microbienne ni diminution de son C/N.

Le pois provoque une augmentation de la minéralisation de l'azote dans les mois qui suivent la fin de la culture, liée à la minéralisation de ses rhizodépôts (Jensen, 1996c). Lorsque les résidus aériens du pois sont enfouis, ils provoquent une immobilisation de l'azote moins importante que ceux des céréales (Jensen, 1997 ; Mitchell et al., 2001 ; Kumar et Goh, 2002), une minéralisation du C supérieure à celle des résidus de colza mais inférieure à celle des résidus de céréales et une minéralisation du S supérieure à celle des céréales mais inférieure à celle du colza (Churka Blum et al., 2013). Cet effet est lié au C/N des résidus, inférieur à ceux des céréales et similaire à celui du colza (Mitchell et al., 2001 ; Churka Blum et al., 2013) et au C/S, intermédiaire entre ceux du colza et des céréales (Churka Blum et al., 2013).

Les résidus du pois entraînent également une augmentation de la biomasse microbienne et de certains groupes fonctionnels, comme les microorganismes dénitrifiants (Biederbeck et al., 2005 ; Piotrowska-Długosz et Wilczewski, 2014). Au niveau des activités enzymatiques, ils provoquent une augmentation de l'activité déshydrogénase (marqueur général de l'activité microbienne), de l'activité protéase et de l'activité arylsulfatase (Biederbeck et al., 2005 ; Piotrowska-Długosz et Wilczewski, 2014) mais pas d'augmentation des activités uréase et d'ammonification de l'arginine (Piotrowska-Długosz et Wilczewski, 2014). Les effets sur l'activité protéase sont peu clairs, variant en fonction de la saison et de l'année (Biederbeck et al., 2005 ; Piotrowska-Długosz et Wilczewski, 2014).

Néanmoins, la disponibilité de l'azote contenu dans les résidus pour la culture suivante est faible. Seul 15 à 30% de l'azote des résidus de pois est minéralisé au cours du cycle de culture suivant (Jensen, 1996a, 1996b ; Evans et al., 2001 ; Lupwayi et al., 2006) et l'azote des résidus ne contribue que de 2 à 10% de l'azote prélevé par une céréale faisant suite au pois (Ladd et al., 1981 ; Jensen, 1996a ; Arcand et al., 2014). Les résidus aériens et racinaires du pois contribuent donc à la formation et au maintien d'un pool d'azote organique sur le long terme (Janzen et al., 1990 ; Jensen, 1997). Malgré la faible disponibilité de l'azote fixé par le pois pour la culture suivante, celle-ci présente généralement un rendement et une teneur en N plus élevées (Jensen, 1996a ; Maidl et al., 1996 ; Ailincăi et al., 2007, 2008 ; Popovici et Bucurean, 2006), ce qui, à son tour, pourrait influencer les communautés microbiennes en augmentant la quantité et la dégradabilité des résidus produits par la culture suivante. Cet effet peut être attribué à une plus grande teneur du sol en azote minéral qui provient soit du plus faible prélèvement d'azote minéral par le pois (Chalk et al., 1993) soit de la plus faible immobilisation d'azote à l'automne par les microorganismes du fait du C/N bas des rhizodépôts et résidus de pois. En effet, les teneurs du sol en azote minéral à l'entrée de l'hiver sont plus élevées de 20 à 40 kg N/ha après une culture de pois qu'après un blé (Carrouée et al., 1999).

4.2 Effet du pois sur la communauté d'adventices

La faible biomasse et la faible couverture du sol (donc la faible interception de la lumière) du pois de printemps lui donne une faible capacité compétitive face aux adventices (Salonen et al., 2005 ; Poggio, 2005 ; Kostrzewska et al., 2012 ; Seibutis et Deveikyte, 2006). On rencontre ainsi 3 à 8 fois plus de biomasse d'adventices dans les cultures de pois de printemps que dans les cultures de céréales (Deveikyte et al., 2009 ; Sarunaite et al., 2013), et elles causent couramment des réductions du rendement de 35 à 50% (Uludag et al., 2003).

Globalement, les communautés d'adventices du pois de printemps sont dominées par des annuelles de printemps (Fried et al., 2008a ; Poggio, 2005) qui présentent les traits fonctionnels typiques des adventices de culture de printemps : grande taille, période de germination courte et tardive, floraison tardive (juin-juillet), faible SLA, et graines plutôt lourdes (Fried et al., 2012 ; Perronne et al., 2015). Les principales espèces sont *Atriplex* spp., *Avena fatua*, *Chenopodium* spp., *Cirsium arvense*, *Echinochloa crus-galli*, *Elytrigia repens*, *Fallopia convolvulus*, *Galeopsis* spp., *Galium aparine*, *Matricaria* spp., *Persicaria* spp., *Poa annua*, *Solanum nigrum*, *Sonchus arvensis*, *Stellaria media*, et *Viola arvensis* (Uludag et al., 2003 ; Salonen et al., 2005 ; Tyr et al., 2009 ; Kostrzewska et al., 2014).

Tableau 4.1 Principales espèces d'adventices du pois de printemps et seuil de nuisibilité de ces espèces dans le blé d'hiver (densité/m² causant une perte de rendement de 5%). Les seuils de nuisibilité sont issus de Storkey (2006)

Espèces d'adventices fréquentes dans le pois	Seuil de nuisibilité dans le blé d'hiver
<i>Atriplex</i> spp.	--
<i>Avena fatua</i>	5
<i>Chenopodium</i> spp.	25
<i>Cirsium arvense</i>	17
<i>Echinochloa crus-galli</i>	--
<i>Elytrigia repens</i>	--
<i>Fallopia convolvulus</i>	17
<i>Galeopsis</i> spp.	--
<i>Galium aparine</i>	2
<i>Matricaria</i> spp.	13
<i>Persicaria</i> spp.	25
<i>Poa annua</i>	50
<i>Solanum nigrum</i>	--
<i>Sonchus arvensis</i>	--
<i>Stellaria media</i>	25
<i>Viola arvensis</i>	250

L'effet du pois sur la composition des communautés d'adventices des cultures lui faisant suite dans une rotation triennale n'a pas, à notre connaissance, été étudié. Néanmoins, le pois de printemps permet de briser le cycle des adventices en jouant sur la date de semis lorsqu'il est incorporé dans des successions de cultures d'hiver. Dans les rotations à base de céréales, il permet également de varier les herbicides en utilisant les herbicides anti-graminées (Munier-Jolain et Carrouée, 2003). On peut également remarquer que les adventices abondantes dans le pois de printemps sont également celles présentant une compétitivité réduite vis-à-vis des céréales d'hiver (Storkey, 2006 ; Tableau 4.1). Une culture d'hiver faisant suite à un pois de printemps présente donc souvent une abondance d'adventices réduite (Stevenson et van Kessel, 1996 ; Chauvel et al., 2001 ; Colbach et al., 2010).

5. Objectifs de la thèse

L'objectif de cette thèse est d'évaluer l'effet de l'introduction du pois dans une succession culturale de céréales et de colza sur l'abondance et la diversité des communautés de microorganismes du sol (particulièrement sur les communautés de bactéries possédant les activités protéase et arylsulfatase) et d'adventices et sur les fonctions écosystémiques associées (compétition entre la culture et les adventices, minéralisation de l'azote et du soufre).

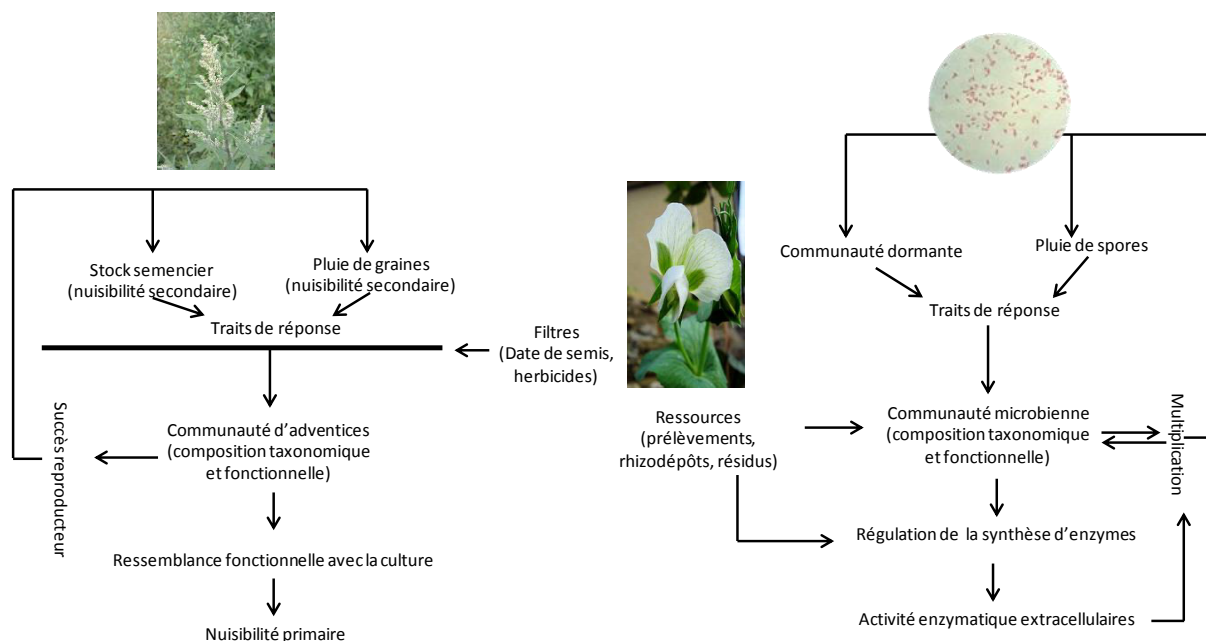


Figure 5.1 Schéma conceptuel de l'effet du pois sur les communautés microbiennes et végétales adventices (images : ©net_efekt, licence CC BY ; ©follavoine, licence GFDL)

Nous émettons l'hypothèse que l'introduction du pois dans la rotation augmente, d'une part, la diversité des perturbations vécues par les adventices en diversifiant les dates de semis et les architectures végétales de la culture, et d'autre part augmente la disponibilité en ressources (C, N, S) pour les communautés microbiennes. L'ensemble ces processus pourrait conduire à une diminution de la compétition entre adventices et culture et à une augmentation des abondances et des activités microbiennes liées à la minéralisation du carbone et du soufre (Figure 5.1).

Plus précisément, nous faisons les hypothèses suivantes :

- Les plantes cultivées modifient l'abondance et l'activité des communautés microbiennes durant leur cycle de développement, cet effet est plus lié à la quantité et à la qualité des résidus enfouis qu'à la sélection de communautés pendant la vie de la plante ;
- L'introduction du pois dans la succession de culture entraîne une modification de la composition taxonomique des communautés microbiennes et une augmentation des activités enzymatiques des cycles de l'azote et du soufre, en raison de l'entrée de résidus riches en N et S et de l'augmentation de la biomasse du blé lui faisant suite ;
- La météorologie de l'année peut modifier les interactions de la culture avec les microorganismes, en particulier les précipitations et les températures sont susceptibles de modifier les interactions avec les communautés microbiennes ;
- Le pois de printemps introduit dans une succession de cultures d'hiver est fonctionnellement plus différent de ses adventices que les autres cultures. Les cultures d'hiver qui font suite au pois

bénéficient de cet effet et sont également fonctionnellement plus différentes de leurs adventices que les cultures d'hiver n'ayant pas de précédent pois.

Pour tester ces hypothèses nous nous sommes basés sur un essai au champ d'une durée de 5 ans comportant deux rotations (colza-blé-orge et colza-blé-orge-pois-blé), ainsi que sur des expérimentations en phytotron afin d'étudier plus finement les interactions entre le développement du pois et du blé, les résidus du pois et les communautés microbiennes.

Le Chapitre 2 présentera les dispositifs expérimentaux au champ et en phytotron. Le Chapitre 3 portera sur les liens entre les traits fonctionnels racinaires du blé et du pois et les communautés microbiennes impliqués dans le cycle de l'azote (protéolyse et ammonification) en condition contrôlées, ainsi que sur l'effet de l'enfouissement des résidus du pois sur ces communautés et leurs activités. Le Chapitre 4 examinera l'effet de différentes cultures (colza, orge et pois) sur les communautés microbiennes impliquées dans la minéralisation de l'azote et du soufre et sur les adventices, à la fois pendant le développement des plantes et sous la culture de blé leur faisant suite. Le Chapitre 5 se composera d'une discussion générale des résultats afin de confirmer ou d'infirmer les hypothèses formulées ci-dessus.

Références

- Aanderud, Z., Jones, S., Fierer, N., Lennon, J.T., 2015. Resuscitation of the rare biosphere contributes to pulses of ecosystem activity. *Frontiers in Microbiology* 6, 1–11. doi:10.3389/fmicb.2015.00024
- Aarssen, L.W., 1992. Causes and consequences of variation in competitive ability in plant communities. *Journal of Vegetation Science* 3, 165–174. doi:10.2307/3235677
- Agreste, 2014. Les rotations des cultures. *Agreste Les Dossiers* 21, 15–18.
- Ailincăi, C., Ailincăi, D., Zbant, M., Mercus, A., Topa, D., Cara, M., 2007. Investigations on the influence of crop rotation and organo-mineral fertilization on maize yield and physical-chemical characteristics of cambic chernozem in the Moldavian plain. *Cercetari Agronomice in Moldova* 3, 5–21.
- Ailincăi, D., Ailincăi, C., Zbant, M., 2008. Influence of organo-mineral fertilization on wheat and maize crops and the evolution of soil fertility under long-term experiments in the Moldavian plain. *Cercetari Agronomice in Moldova* XLI, 33–42.
- Ajirloo, A.R., Ahangar, A.G., 2014. Influence of conventional and conservation tillage on c and n mineralization in soil. A review. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences* 4, 276–283.
- Ajwa, H.A., Dell, C.J., Rice, C.W., 1999. Changes in enzyme activities and microbial biomass of tallgrass prairie soil as related to burning and nitrogen fertilization. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 769–777. doi:10.1016/S0038-0717(98)00177-1
- Albrecht, H., Auerswald, K., 2009. Seed traits in arable weed seed banks and their relationship to land-use changes. *Basic and Applied Ecology* 10, 516–524. doi:10.1016/j.baae.2009.02.002

- Allison, C., Macfarlane, G.T., 1990. Regulation of protease production in *Clostridium sporogenes*. *Applied and Environmental Microbiology* 56, 3485–3490.
- Allison, S.D., Chacon, S.S., German, D.P., 2014. Substrate concentration constraints on microbial decomposition. *Soil Biology and Biochemistry* 79, 43–49. doi:10.1016/j.soilbio.2014.08.021
- Allison, S.D., Martiny, J.B.H., 2008. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, 11512–11519. doi:10.1073/Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.0801925105
- Allison, S.D., Weintraub, M.N., Gartner, T.B., Waldrop, M.P., 2011. Evolutionary-economic principles as regulators of soil enzyme production and ecosystem function, in: Shukla, G., Varma, A. (Eds.), *Soil Enzymology*. Springer-Verlag, Berlin, Allemagne, pp. 275–285. doi:10.1007/978-3-642-14225-3
- Alvarez, R., 2005. A review of nitrogen fertilizer and conservation tillage effects on soil organic carbon storage. *Soil Use and Management* 21, 38–52. doi:10.1079/SUM2005291
- Alvaro-Fuentes, J., Morell, F.J., Madejon, E., Lampurlane, J., Arrue, J.L., Cantero-Martinez, C., 2013. Soil biochemical properties in a semiarid Mediterranean agroecosystem as affected by long-term tillage and N fertilization. *Soil and Tillage Research* 129, 69–74. doi:10.1016/j.still.2013.01.005
- Aminpanah, H., Firouzi, S., Abbasian, A., 2013. Competitive ability of canola cultivars (*Brassica napus* L.) against their natural weed populations. *International Journal of Biosciences* 3, 121–128.
- Anderson, G.C., Fillery, I.R.P., Ripper, F.H., Leach, B.J., 2006. Sulfur mineralisation in a coarse-textured soil after different sulfate fertilisation histories, and yield responses of wheat and lupin. *Australian Journal of Soil Research* 44, 165–174. doi:10.1071/SR05080
- Andersson, T.N., Milberg, P., 1998. Weed flora and the relative importance of site, crop, crop rotation, and nitrogen. *Weed Science* 46, 30–38.
- Andreasen, C., Skovgaard, I.M., 2009. Crop and soil factors of importance for the distribution of plant species on arable fields in Denmark. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 133, 61–67. doi:10.1016/j.agee.2009.05.003
- Andrew, I.K.S., Storkey, J., Sparkes, D., 2015. A review of the potential for competitive cereal cultivars as a tool in integrated weed management. *Weed Research* 55, 239–248. doi:10.1111/wre.12137
- Arcand, M.M., Knight, J.D., Farrell, R.E., 2014. Differentiating between the supply of N to wheat from above and belowground residues of preceding crops of pea and canola. *Biology and Fertility of Soils* 50, 563–570. doi:10.1007/s00374-013-0877-4
- Arcand, M.M., Knight, J.D., Farrell, R.E., 2013a. Temporal dynamics of nitrogen rhizodeposition in field pea as determined by ¹⁵N labeling. *Canadian Journal of Plant Science* 93, 941–950. doi:10.4141/CJPS2013-050
- Arcand, M.M., Knight, J.D., Farrell, R.E., 2013b. Estimating belowground nitrogen inputs of pea and canola and their contribution to soil inorganic N pools using ¹⁵N labeling. *Plant and Soil* 371, 67–80. doi:10.1007/s11104-013-1626-z
- Aref, S., Wander, M.M., 1998. Long-term trends of corn yield and soil organic matter in different crop sequences and soil fertility treatments on the morrow plots. *Advances in Agronomy*, 62, 153–197.
- Ashby, M.N., Rine, J., Mongodin, E.F., Nelson, K.E., Dimster-Denk, D., 2007. Serial analysis of rRNA genes and the unexpected dominance of rare members of microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 73, 4532–4542. doi:10.1128/AEM.02956-06
- Asif, M., Iqbal, M., Randhawa, H., Spaner, D., 2014. Crop competitiveness, in: Asif, M., Iqbal, M., Randhawa, H., Spaner, D. (Eds.), *Managing and breeding wheat for organic systems. Enhancing competitiveness against weeds*. Springer International Publishing, New York, USA, pp. 9–20. doi:10.1007/978-3-319-05002-7
- Asmar, F., Eiland, F.I., Nielsen, N.E., 1992. Interrelationship between extracellular enzyme activity, ATP content, total counts of bacteria and CO₂ evolution. *Biology and Fertility of Soils* 14, 288–292.

- Bach, H., Errampalli, D., Leung, K.T., Lee, H., Hartmann, A., Trevors, J.T., Munch, J.C., 1999. Specific detection of the gene for the extracellular neutral protease of *Bacillus cereus* by pcr and blot hybridization. *Applied and Environmental Microbiology* 65, 3226–3228.
- Bach, H., Hartmann, A., Schlöter, M., Munch, J.C., 2001. PCR primers and functional probes for amplification and detection of bacterial genes for extracellular peptidases in single strains and in soil. *Journal of Microbiological Methods* 44, 173–182.
- Bach, H.-J., Munch, J.C., 2000. Identification of bacterial sources of soil peptidases. *Biology and Fertility of Soils* 31, 219–224.
- Badalucco, L., Kuikman, P., Nannipieri, P., 1996. Protease and deaminase activities in wheat rhizosphere and their relation to bacterial and protozoan populations. *Biology and Fertility of Soils* 23, 99–104.
- Bais, H.P., Park, S.W., Weir, T.L., Callaway, R.M., Vivanco, J.M., 2004. How plants communicate using the underground information superhighway. *Trends in Plant Science* 9, 26–32. doi:10.1016/j.tplants.2003.11.008
- Bais, H.P., Weir, T.L., Perry, L.G., Gilroy, S., Vivanco, J.M., 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology* 57, 233–266. doi:10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159
- Baker, H.G., 1974. The evolution of weeds. *Annual Review of Ecology and Systematics* 5, 1–24. doi:10.1146/annurev.es.05.110174.000245
- Balesdent, J., Chenu, C., Balabane, M., 2000. Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. *Soil and Tillage Research* 53, 215–230. doi:10.1016/S0167-1987(99)00107-5
- Baligar, V.C., Wright, R.J., Fageria, N.K., Pitta, G.V.E., 1999. Enzyme activities in Cerrado soils of Brazil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 30, 1551–1560. doi:10.1080/00103629909370306
- Ball, D.A., Miller, S.D., 1990. Weed seed population response to tillage and herbicide use in three irrigated cropping sequences. *Weed Science* 38, 511–517.
- Balota, E.L., Machineski, O., Truber, P.V., Antonio, P., Auler, M., 2011. Effect of tillage systems and permanent groundcover intercropped with orange trees on soil enzyme activities. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 54, 221–228. doi:10.1590/S1516-89132011000200001
- Balota, E.L., Yada, I.F., Amaral, H., Nakatani, A.S., Dick, R.P., Coyne, M.S., 2014. Long-term land use influences soil microbial biomass P and S, phosphatase and arylsulfatase activities, and S mineralization in a Brazilian oxisol. *Land Degradation and Development* 25, 397–406. doi:10.1002/ldr.2242
- Balvanera, P., Pfisterer, A.B., Buchmann, N., He, J.-S., Nakashizuka, T., Raffaelli, D., Schmid, B., 2006. Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services. *Ecology Letters* 9, 1146–1156. doi:10.1111/j.1461-0248.2006.00963.x
- Banerjee, M.R., Chapman, S.J., 1996. The significance of microbial biomass sulphur in soil. *Biology And Fertility Of Soils* 22, 116–125. doi:10.1007/BF00384442
- Banfield, J.F., Barker, W.W., Welch, S.A., Taunton, A., 1999. Biological impact on mineral dissolution: application of the lichen model to understanding mineral weathering in the rhizosphere. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96, 3404–3411. doi:10.1073/Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.96.7.3404
- Bàrberi, P., 2002. Weed management in organic agriculture: Are we addressing the right issues? *Weed Research* 42, 177–193. doi:10.1046/j.1365-3180.2002.00277.x
- Barberi, P., Cozzani, A., Macchia, M., Bonari, E., 1998. Size and composition of the weed seedbank under different management systems for continuous maize crop. *Weed Research* 38, 319–334. doi:10.1046/j.1365-3180.1998.00098.x
- Bardgett, R.D., Mommer, L., De Vries, F.T., 2014. Going underground: Root traits as drivers of ecosystem processes. *Trends in Ecology and Evolution* 29, 692–699. doi:10.1016/j.tree.2014.10.006

- Bastida, F., Kandeler, E., Hernández, T., García, C., 2008. Long-term effect of municipal solid waste amendment on microbial abundance and humus-associated enzyme activities under semiarid conditions. *Microbial Ecology* 55, 651–661. doi:10.1007/s00248-007-9308-0
- Beare, M.H., Cabrera, M.L., Hendrix, P.F., Coleman, D.C., 1994. Aggregate-protected and unprotected organic-matter pools in conventional-tillage and no-tillage soils. *Soil Science Society of America Journal* 58, 787–795.
- Beg, Q.K., Saxena, R.K., Gupta, R., 2002. De-repression and subsequent induction of protease synthesis by *Bacillus mojavensis* under fed-batch operations. *Process Biochemistry* 37, 1103–1109. doi:10.1016/S0032-9592(01)00320-X
- Behm, J.E., Kiers, E.T., 2014. A phenotypic plasticity framework for assessing intraspecific variation in arbuscular mycorrhizal fungal traits. *Journal of Ecology* 102, 315–327. doi:10.1111/1365-2745.12194
- Beil, S., Kehrli, H., James, P., Staudenmann, W., Cook, A.M., Leisinger, T., Kertesz, M.A., 1995. Purification and characterization of the arylsulfatase synthesized by *Pseudomonas-aeruginosa* Pao during growth in sulfate-free medium and cloning of the arylsulfatase gene (*atsA*). *European Journal of Biochemistry* 229, 385–394. doi:10.1111/j.1432-1033.1995.tb20479.x
- Bell, C.W., Asao, S., Calderon, F., Wolk, B., Wallenstein, M.D., 2015. Plant nitrogen uptake drives rhizosphere bacterial community assembly during plant growth. *Soil Biology and Biochemistry* 85, 170–182. doi:10.1016/j.soilbio.2015.03.006
- Bell, T., Gessner, M.O., Griffiths, R.I., McLaren, J., Morin, P.J., van der Heijden, M., van der Putten, W., 2009. Microbial biodiversity and ecosystem functioning under controlled conditions and in the wild, in: Naeem, S., Bunker, D.E., Hector, A., Loreau, M., Perrings, C. (Eds.), *Biodiversity, Ecosystem Functioning, and Human Wellbeing. An Ecological and Economic Perspective*. Oxford University Press, Oxford, Royaume-Uni, pp. 121–133.
- Bell, T.H., Henry, H.A.L., 2011. Fine scale variability in soil extracellular enzyme activity is insensitive to rain events and temperature in a mesic system. *Pedobiologia* 54, 141–146. doi:10.1016/j.pedobi.2010.12.003
- Beltran, J.C., Pannell, D.J., Doole, G.J., 2012. Economic implications of herbicide resistance and high labour costs for management of annual barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in Philippine rice farming systems. *Crop Protection* 31, 31–39. doi:10.1016/j.cropro.2011.09.012
- Bent, S.J., Forney, L.J., 2008. The tragedy of the uncommon: Understanding limitations in the analysis of microbial diversity. *The ISME Journal* 2, 689–695. doi:10.1038/ismej.2008.44
- Benton, T.G., Bryant, D.M., Cole, L., Crick, H.Q.P., 2002. Linking agricultural practice to insect and bird populations: A historical study over three decades. *Journal of Applied Ecology* 39, 673–687. doi:10.1046/j.1365-2664.2002.00745.x
- Béraud, E., 1996. Un demi siècle d'agriculture. Plus de performances sur moins d'espace. *INSEE Première* 466, 1–4.
- Berger, U., Piou, C., Schiffrers, K., Grimm, V., 2008. Competition among plants: Concepts, individual-based modelling approaches, and a proposal for a future research strategy. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 9, 121–135. doi:10.1016/j.ppees.2007.11.002
- Berka, C., Schreier, H., Hall, K., 2001. Linking water quality with agricultural intensification in a rural watershed. *Water, Air, and Soil Pollution* 127, 389–401.
- Bernal, M.P., Albuquerque, J.A., Moral, R., 2009. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment. A review. *Bioresource Technology* 100, 5444–5453. doi:10.1016/j.biortech.2008.11.027
- Berner, A., Hildermann, I., Fließbach, A., Pfiffner, L., Niggli, U., Mäder, P., 2008. Crop yield and soil fertility response to reduced tillage under organic management. *Soil and Tillage Research* 101, 89–96. doi:10.1016/j.still.2008.07.012
- Bertrand, M., Doré, T., 2008. Comment intégrer la maîtrise de la flore adventice dans le cadre général d'un système de production intégrée ? *Innovations Agronomiques* 3, 1–13.

- Bettany, J.R., Stewart, J.W.B., 1983. Sulphur cycling in soils., in: *Proceedings of the Sulphur '82 Conference*, Vol. 2. (Ed. More, A.I.) pp. 767–786.
- Biederbeck, V.O., Zentner, R.P., Campbell, C.A., 2005. Soil microbial populations and activities as influenced by legume green fallow in a semiarid climate. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 1775–1784. doi:10.1016/j.soilbio.2005.02.011
- Björklund, J., Limburg, K.E., Rydberg, T., 1999. Impact of production intensity on the ability of the agricultural landscape to generate ecosystem services: An example from Sweden. *Ecological Economics* 29, 269–291. doi:10.1016/S0921-8009(99)00014-2
- Blackshaw, R.E., Brandt, R.N., Janzen, H.H., Entz, T., Grant, C.A., Derksen, D.A., 2003. Differential response of weed species to added nitrogen. *Weed Science* 51, 532–539. doi:10.1614/0043-1745(2003)051[0532:DROWST]2.0.CO;2
- Blagodatskaya, E., Kuzyakov, Y., 2008. Mechanisms of real and apparent priming effects and their dependence on soil microbial biomass and community structure: Critical review. *Biology and Fertility of Soils* 45, 115–131. doi:10.1007/s00374-008-0334-y
- Blecker, S.W., Stillings, L.L., Amacher, M.C., Ippolito, J.A., DeCrappeo, N.M., 2013. Development and application of a soil organic matter-based soil quality index in mineralized terrane of the Western US. *Environmental Earth Sciences* 68, 1887–1901. doi:10.1007/s12665-012-1876-8
- Bohan, D.A., Powers, S.J., Champion, G., Haughton, A.J., Hawes, C., Squire, G., Cussans, J., Mertens, S.K., 2011. Modelling rotations: can crop sequences explain arable weed seedbank abundance? *Weed Research* 51, 422–432. doi:10.1111/j.1365-3180.2011.00860.x
- Boizet, F., Chaillet, I., Crosson, P., Killmayer, M., Pointereau, B., Taupin, P., Vacher, C., Vannetzel, E., Verdier, J.-L., Biarnes, V., Blosseville, N., Carrouée, B., Moussart, A., Schneider, A., Lous, L.V. Le, 2014. *Pois protéagineux de printemps et d'hiver. Guide de culture 2014-2015*. ARVALIS-Institut du Végétal, UNIP, FNAMS, 40p.
- Bommelaer, O., Devaux, J., 2011. Coûts des principales pollutions agricoles de l'eau. *Commissariat Général Au Développement Durable - Etudes et Documents* 52, 1–30.
- Bonneuil, C., Thomas, F., 2002. Du maïs hybride aux OGM : Un demi-siècle de génétique et d'amélioration des plantes à l'INRA. In : *Actes du Colloque « L'amélioration Des Plantes, Continuités et Ruptures »* (Eds. Boitard, P., Sabbagh, C., Savini, I.), pp. 1–12.
- Bonny, S., 2010. L'intensification écologique de l'agriculture: Voies et défis. In: *Innovation and Sustainable Development in Agriculture and Food Symposium*, pp. 1–11.
- Bonten, L.T.C., Zwart, K.B., Rietra, R.P.J.J., Postma, R., de Haas, M.J.G., 2014. Bio-slurry as fertilizer. Is bio-slurry from household digesters a better fertilizer than manure? A literature review. *Alterra, Wageningen, Pays-Bas*, 50p.
- Booth, M.S., Stark, J.M., Rastetter, E., 2005. Controls on nitrogen cycling in terrestrial ecosystems: a synthetic analysis of literature data. *Ecological Monographs* 75, 139–157.
- Bowers, M. a, Harris, L.C., 1994. A large-scale metapopulation model of interspecific competition and environmental change. *Ecological Modelling* 72, 251–273. doi:10.1016/0304-3800(94)90086-8
- Brooker, R., Kikvidze, Z., Pugnaire, F.I., Callaway, R.M., Choler, P., Lortie, C.J., Michalet, R., 2005. The importance of importance. *Oikos* 109, 63–70. doi:10.1111/j.0030-1299.2005.13557.x
- Brooker, R.W., Kikvidze, Z., 2008. Importance: An overlooked concept in plant interaction research. *Journal of Ecology* 96, 703–708. doi:10.1111/j.1365-2745.2007.0
- Brown, G.G., Barois, I., Lavelle, P., 2000. Regulation of soil organic matter dynamics and microbial activity in the drilosphere and the role of interactions with other edaphic functional domains. *European Journal of Soil Biology* 36, 177–198. doi:10.1016/S1164-5563(00)01062-1
- Brundrett, M., 1991. Mycorrhizas in natural ecosystems. *Advances in Ecological Research* 21, 171–313. doi:10.1016/S0065-2504(08)60099-9

- Caldwell, B.A., 2005. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review. *Pedobiologia* 49, 637–644. doi:10.1016/j.pedobi.2005.06.003
- Callis, J., 1995. Regulation Of Protein-Degradation. *Plant Cell* 7, 845–857.
- Cardina, J., Herms, C.P., Doohan, D.J., 2002. Crop rotation and tillage system effects on weed seedbanks. *Weed Science* 50, 448–460. doi:10.1614/0043-1745(2002)050[0448:CRATSE]2.0.CO;2
- Carpenter-Boggs, L., Pikul, J.L.J., Vigil, M.F., Riedell, W.E., 2000. Soil nitrogen mineralization influenced by crop rotation and nitrogen fertilization. *Soil Science Society of America Journal* 64, 2038–2045.
- Carrouée, B., Jannot, P., Justes, E., Kouassi, A., Mathys, L., 1999. Fertilisation azotée de trois légumineuses. Le haricot, la luzerne et le pois protéagineux. Comité d'orientation pour des pratiques agricoles respectueuses de l'environnement, Paris, France, 48p.
- Carrouée, B., Schneider, A., Flénet, F., H Jeuffroy, M., Nemecek, T., 2012. Introduction du pois protéagineux dans des rotations à base de céréales à paille et colza: impacts sur les performances économiques et environnementales. *Innovations Agronomiques* 25, 125–142.
- Carter, M.R., Peters, R.D., Noronha, C., Kimpinski, J., 2009. Influence of 10 years of conservation tillage on some biological properties of a fine sandy loam in the potato phase of two crop rotations in Atlantic Canada. *Canadian Journal of Soil Science* 89, 391–402.
- Castellano, S.D., Dick, R.P., 1991. Cropping and sulfur fertilization influence on sulfur transformations in soil. *Soil Science Society of America Journal* 55, 114–121.
- Castro Lopes, A.A., Sousa, D.M.G. de, Chaer, G.M., Junior, F.B. dos R., Goedert, W.J., Mendes, I. de C., 2012. Interpretation of microbial soil indicators as a function of crop yield and organic carbon. *Soil Biology and Biochemistry* 77, 461–472. doi:10.2136/sssaj2012.0191
- Caton, B.P., Mortimer, A.M., Foin, T.C., Hill, J.E., Gibson, K.D., Fischer, A.J., 2001. Weed shoot morphology effects on competitiveness for light in direct-seeded rice. *Weed Research* 41, 155–163. doi:10.1046/j.1365-3180.2001.00228.x
- Caussanel, J.P., 1989. Nuisibilité et seuils de nuisibilité des mauvaises herbes dans une culture annuelle: situation de concurrence bispécifique. *Agronomie* 9, 219–240.
- Cavaillès, E., 2009. La relance des légumineuses dans le cadre d'un plan protéine : Quels bénéfices environnementaux ? Commissariat Général Au Développement Durable - Etudes et Documents 15, 1–44.
- Cayuela, M.L., Sinicco, T., Mondini, C., 2009. Mineralization dynamics and biochemical properties during initial decomposition of plant and animal residues in soil. *Applied Soil Ecology* 41, 118–127. doi:10.1016/j.apsoil.2008.10.001
- Chagnon, M., Kreutzweiser, D., Mitchell, E.A.D., Morrissey, C.A., Noome, D.A., van der Sluijs, J.P., 2015. Risks of large-scale use of systemic insecticides to ecosystem functioning and services. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 119–134. doi:10.1007/s11356-014-3277-x
- Chalk, P.M., Smith, C.J., Hamilton, S.D., Hopmans, P., 1993. Characterization of the N benefit of a grain legume (*Lupinus angustifolius* L.) to a cereal (*Hordeum vulgare* L.) by an in situ ¹⁵N isotope dilution technique. *Biology and Fertility of Soils* 15, 39–44.
- Chauhan, B.S., Gill, G.S., Preston, C., 2006. Tillage system effects on weed ecology, herbicide activity and persistence: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 46, 1557–1570. doi:10.1071/EA05291
- Chauvel, B., Guillemin, J.P., Colbach, N., Gasquez, J., 2001. Evaluation of cropping systems for management of herbicide-resistant populations of blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.). *Crop Protection* 20, 127–137. doi:10.1016/S0261-2194(00)00065-X
- Chauvel, B., Guillemin, J.P., Gasquez, J., Gauvrit, C., 2012. History of chemical weeding from 1944 to 2011 in France: Changes and evolution of herbicide molecules. *Crop Protection* 42, 320–326. doi:10.1016/j.cropro.2012.07.011

- Chen, L., Zhang, J., Zhao, B., Yan, P., Zhou, G., Xin, X., 2014. Effects of straw amendment and moisture on microbial communities in Chinese fluvo-aquic soil. *Journal of Soils and Sediments* 14, 1829–1840. doi:10.1007/s11368-014-0924-2
- Cheng, W., Kuzyakov, Y., 2005. Root Effects on Soil Organic Matter Decomposition, in: Zobel, R. W.; Wright, S.F. (Ed.), *Roots and Soil Management: Interactions between Roots and the Soil*. American Society of Agronomy, Madison, USA, pp. 119–144.
- Chevallier, S., Goeltz, P., Thibault, P., Banville, D., Gagnon, J., 1992. Characterization of a Prolyl Endopeptidase from *Flavobacterium meningosepticum*. Complete sequence and localization of the active-site serine. *The Journal of Biological Chemistry* 267, 8192–8199.
- Chevassus au Louis, B., Griffon, M., 2008. La nouvelle modernité : une agriculture productive à haute valeur écologique. *Déméter: Économie et Stratégies Agricoles* 14, 7–48.
- Chowdhury, M.A.H., Kouno, K., Ando, T., 2000. Critical sulphur concentration and sulphur requirement of microbial biomass in a glucose and cellulose-amended regosol. *Biology and Fertility of Soils* 32, 310–317.
- Churka Blum, S., Lehmann, J., Solomon, D., Caires, E.F., Alleoni, L.R.F., 2013. Sulfur forms in organic substrates affecting S mineralization in soil. *Geoderma* 200–201, 156–164. doi:10.1016/j.geoderma.2013.02.003
- Christiansen, T., Nielsen, J., 2002. Production of extracellular protease and glucose uptake in *Bacillus clausii* in steady-state and transient continuous cultures. *Journal of Biotechnology* 97, 265–273. doi:10.1016/S0168-1656(02)00109-8
- CIRAD, 2010. La nature comme modèle pour une intensification écologique de l'agriculture.
- Cirujeda, A., Aibar, J., Zaragoza, C., 2011. Remarkable changes of weed species in Spanish cereal fields from 1976 to 2007. *Agronomy for Sustainable Development* 31, 675–688. doi:10.1007/s13593-011-0030-4
- Clements, D.R., Ditommaso, A., Jordan, N., Booth, B.D., Cardina, J., Doohan, D., Mohler, C.L., Murphy, S.D., Swanton, C.J., 2004. Adaptability of plants invading North American cropland. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 104, 379–398. doi:10.1016/j.agee.2004.03.003
- Cleveland, C.C., Liptzin, D., 2007. C:N:P stoichiometry in soil: Is there a “Redfield ratio” for the microbial biomass? *Biogeochemistry* 85, 235–252. doi:10.1007/s10533-007-9132-0
- Cohen, B.L., 1981. Regulation of protease production in *aspergillus*. *Transactions Of The British Mycological Society* 76, 447–450.
- Colbach, N., Granger, S., Guyot, S.H.M., Mézière, D., 2014. A trait-based approach to explain weed species response to agricultural practices in a simulation study with a cropping system model. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 183, 197–204. doi:10.1016/j.agee.2013.11.013
- Colbach, N., Schneider, A., Ballot, R., Vivier, C., 2010. Diversifying cereal-based rotations to improve weed control. Evaluation with the AlomySys model quantifying the effect of cropping systems on a grass weed. *OCL - Oleagineux Corps Gras Lipides* 17, 292–300. doi:10.1684/ocl.2010.0331
- Cornwell, W.K., Schwilk, D.W., Ackerly, D.D., 2006. A trait-based test for habitat filtering: Convex hull volume. *Ecology* 87, 1465–1471. doi:10.1890/0012-9658(2006)87[1465:ATTFHF]2.0.CO;2
- Corre-Hellou, G., Fustec, J., Crozat, Y., 2006. Interspecific Competition for Soil N and its Interaction with N₂ Fixation, Leaf Expansion and Crop Growth in Pea–Barley Intercrops. *Plant and Soil* 282, 195–208. doi:10.1007/s11104-005-5777-4
- Cosser, N.D., Gooding, M.J., Thompson, a J., Froud-Williams, R.J., 1997. Competitive ability and tolerance of organically grown wheat cultivars to natural weed infestations. *Annals of Applied Biology* 130, 523–535.
- Craine, J., 2005. Reconciling plant strategy theories of Grime and Tilman. *Journal of Ecology* 1041–1052. doi:10.1111/j.1365-2745.2005.01043.x
- Cregut, M., Piutti, S., Slezack-deschaumes, S., Benizri, E., 2013. Compartmentalization and regulation of arylsulfatase activities in *Streptomyces* sp., *Microbacterium* sp. and *Rhodococcus* sp. soil isolates in response to inorganic sulfate limitation. *Microbiological Research* 168, 12–21. doi:10.1016/j.micres.2012.08.001

- Cregut, M., Piutti, S., Vong, P., Slezack-deschaumes, S., Crovisier, I., Benizri, E., 2009. Density, structure, and diversity of the cultivable arylsulfatase-producing bacterial community in the rhizosphere of field-grown rape and barley. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 704–710. doi:10.1016/j.soilbio.2009.01.005
- Cuvaric, M., Tveitnes, S., Krogstad, T., Lombnaes, P., 2004. Long-term effects of crop rotation and different fertilization systems on soil fertility and productivity. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science* 54, 193–201. doi:10.1080/09064710410030258
- Darch, T., Blackwell, M.S.A., Hawkins, J.M.B., Haygarth, P.M., Chadwick, D., 2014. A meta-analysis of organic and inorganic phosphorus in organic fertilizers, soils, and water: Implications for water quality. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 44, 2172–2202. doi:10.1080/10643389.2013.790752
- Davis, K.E.R., Sangwan, P., Janssen, P.H., 2011. Acidobacteria, Rubrobacteridae and Chloroflexi are abundant among very slow-growing and mini-colony-forming soil bacteria. *Environmental Microbiology* 13, 798–805. doi:10.1111/j.1462-2920.2010.02384.x
- Dedourge, O., Vong, P., Benizri, É., Lasserre-joulin, F., Guckert, A., 2003. Immobilization of sulphur-35, microbial biomass and arylsulphatase activity in soils from field-grown rape, barley and fallow. *Biology and Fertility of Soils* 38, 181–185. doi:10.1007/s00374-003-0646-x
- Dedourge, O., Vong, P.C., Lasserre-Joulin, F., Benizri, E., Guckert, A., 2004. Effects of glucose and rhizodeposits (with or without cysteine-S) on immobilized-35S, microbial biomass-35S and arylsulphatase activity in a calcareous and an acid brown soil. *European Journal of Soil Science* 55, 649–656. doi:10.1111/j.1365-2389.2004.00645.x
- Deguine, J., Ferron, P., Russell, D., 2008. Sustainable pest management for cotton production. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 28, 113–137. doi:10.1051/agro
- de-la-Peña, C., Loyola-Vargas, V.M., 2014. Biotic interactions in the rhizosphere: a diverse cooperative enterprise for plant productivity. *Plant Physiology* 166, 701–719. doi:10.1104/pp.114.241810
- Delisle, G.J., Milazzo, F.H., 1972. Characterization of arylsulfatase isoenzymes from *Pseudomonas aeruginosa*. *Canadian Journal of Microbiology* 18, 561–568.
- den Hollander, N.G., Bastiaans, L., Kropff, M.J., 2007. Clover as a cover crop for weed suppression in an intercropping design. II. Competitive ability of several clover species. *European Journal of Agronomy* 26, 104–112. doi:10.1016/j.eja.2006.08.005
- Deng, S.P., MA Tabatabai, 1997. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils : III. Phosphatases and arylsulfatase. *Biology and Fertility of Soils* 24, 141–146.
- Dequiedt, S., Saby, N.P.A., Lelievre, M., Jolivet, C., Thioulouse, J., Toutain, B., Arrouays, D., Bispo, A., Lemanceau, P., Ranjard, L., 2011. Biogeographical patterns of soil molecular microbial biomass as influenced by soil characteristics and management. *Global Ecology and Biogeography* 20, 641–652. doi:10.1111/j.1466-8238.2010.00628.x
- Derksen, D.A., Thomas, A.G., Lafond, G., Loepky, H., Swanton, C.J., 1995. Impact of Postemergence Herbicides on Weed Community Diversity Within Conservation-Tillage Systems. *Weed Research* 35, 311–320. doi:10.1111/j.1365-3180.1995.tb01794.x
- Deslille, G.J., Millazo, F.H., 1972. Characterization of arylsulfatase isoenzymes from *Pseudomonas aeruginosa*. *Canadian Journal of Microbiology* 18, 561–568.
- Deslille, G.J., Millazo, F.H., 1970. The isolation of arylsulfatase isoenzymes from *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochimica et Biophysica Acta* 212, 505–508.
- Desriers, M., 2007. L'agriculture française depuis cinquante ans: des petites exploitations familiales aux droits à paiement unique. *Agreste Cahiers* 2, 17–30.
- De Varennes, A., Torres, M.O., Cunha-Queda, C., Goss, M.J., Carranca, C., 2007. Nitrogen conservation in soil and crop residues as affected by crop rotation and soil disturbance under Mediterranean conditions. *Biology and Fertility of Soils* 44, 49–58. doi:10.1007/s00374-007-0177-y
- Deveikyte, I., Kadziulienė, Z., Sarunaite, L., 2009. Weed suppression ability of spring cereal crops and peas in pure and mixed stands. *Agronomy Research* 7, 239–244.

- Deveikyte, I., Semaskiene, R., Leistrumaitė, A., 2008. The competition between cereals and weeds under the conditions of organic agriculture. *Zemdirbyste-Agriculture* 95, 3–15.
- Diacono, M., Montemurro, F., 2010. Long-term effects of organic amendments on soil fertility. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 30, 401–422. doi:10.1051/agro/2009040
- Didon, U.M.E., 2002. Variation between barley cultivars in early response to weed competition. *Journal of Agronomy and Crop Science* 188, 176–184. doi:10.1046/j.1439-037X.2002.00566.x
- Dilly, O., Munch, J.C., Pfeiffer, E., 2007. Enzyme activities and litter decomposition in agricultural soils in northern, central, and southern Germany. *Journal Of Plant Nutrition And Soil Science* 170, 197–204. doi:10.1002/jpln.200622044
- Dimassi, B., Mary, B., Wylleman, R., Labreuche, J., Couture, D., Piraux, F., Cohan, J.-P., 2014. Long-term effect of contrasted tillage and crop management on soil carbon dynamics during 41 years. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 188, 134–146. doi:10.1016/j.agee.2014.02.014
- Dinesh, R., Suryanarayana, M.A., Chaudhuri, S.G., Sheeja, T.E., 2004. Long-term influence of leguminous cover crops on the biochemical properties of a sandy clay loam Fluventic Sulfaquent in a humid tropical region of India. *Soil and Tillage Research* 77, 69–77. doi:10.1016/j.still.2003.11.001
- Dingkuhn, M., Johnson, D.E., Sow, A., Audebert, A.Y., 1999. Relationships between upland rice canopy characteristics and weed competitiveness. *Field Crops Research* 61, 79–95. doi:10.1016/S0378-4290(98)00152-X
- Ditomaso, J.M., 1995. Approaches for improving crop competitiveness through the manipulation of fertilization strategies. *Weed Science* 43, 491–497.
- Dittert, K., Goerges, T., Sattelmacher, B., 1998. Nitrogen turnover in soil after application of animal manure and slurry as studied by the stable isotope ^{15}N : A review. *Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde* 161, 453–463. doi:10.1002/jpln.1998.3581610412
- Dodgson, K., White, G., Fitzgerald, J., 1982. *Sulfatases of microbial origin*. CRC Press, Boca Raton, USA.
- Dodor D E, Tabatabai, M.A., 2003. Effect of cropping systems on phosphatases in soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 166, 7–13. doi:10.1007/s003740050647
- Dominati, E., Patterson, M., Mackay, A., 2010. A framework for classifying and quantifying the natural capital and ecosystem services of soils. *Ecological Economics* 69, 1858–1868. doi:10.1016/j.ecolecon.2010.05.002
- Donachie, S.P., Foster, J.S., Brown, M. V., 2007. Culture clash: Challenging the dogma of microbial diversity. *The ISME Journal* 1, 97–99. doi:10.1038/ismej.2007.22
- Donald, C.M., 1963. Competition among crop and pasture plants. *Advances in Agronomy* 15, 1–18.
- Donald, P.F., Green, R.E., Heath, M.F., 2001. Agricultural intensification and the collapse of Europe's farmland bird populations. *Proceedings of the Royal Society Of London Series B-Biological Sciences* 268, 25–29.
- Dong, W., Hu, C., Zhang, Y., Wu, D., 2012. Gross mineralization, nitrification and N_2O emission under different tillage in the North China Plain. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 94, 237–247. doi:10.1007/s10705-012-9536-7
- Doucet, C., Weaver, S.E., Hamill, A.S., Zhang, J.H., 1999. Separating the effects of crop rotation from weed management on weed density and diversity. *WEED SCIENCE* 47, 729–735.
- Dreiherr, J., Kordysh, E., 2006. Non-Hodgkin lymphoma and pesticide exposure: 25 Years of research. *Acta Haematologica* 116, 153–164. doi:10.1159/000094675
- Drinkwater, L.E., Snapp, S.S., 2007. Nutrients in agroecosystems: Rethinking the management paradigm. *Advances in Agronomy* 92, 163–186. doi:10.1016/S0065-2113(04)92003-2
- Dubois, A., 2013. Contamination des cours d'eau par les pesticides en 2011. *Commissariat Général Au Développement Durable - Chiffres et Statistiques* 436, 1–7.
- Dubois, G., 2007. Protéagineux dans la rotation : un effet bénéfique qui ne se limite pas au gain de rendement. *Perspectives Agricoles* 336, 64–66.

- Duke, S.O., Rimando, A.M., Baerson, S.R., Scheffler, B.E., Ota, E., Belz, R.G., 2002. Strategies for the use of natural products for weed management. *Journal of Pesticide Science* 27, 298–306.
- Dunbabin, V., 2007. Simulating the role of rooting traits in crop-weed competition. *Field Crops Research* 104, 44–51. doi:10.1016/j.fcr.2007.03.014
- Dutoit, T., Gerbaud, E., Ourcival, J.-M., Roux, M., Alard, D., 2001. Recherche prospective sur la dualité entre caractéristiques morphologiques et capacités de compétition des végétaux : le cas des espèces adventices et du blé. *Comptes Rendus de l'Académie Des Sciences - Series III - Sciences de la Vie* 324, 261–272. doi:10.1016/S0764-4469(00)01296-8
- Edmeades, D.C., 2003. The long-term effects of manures and fertilisers on soil productivity and quality: a review. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 66, 165–180. doi:10.1023/A:1023999816690
- Edwards, C.B., Jordan, D.L., Owen, M.D., Dixon, P.M., Young, B.G., Wilson, R.G., Weller, S.C., Shaw, D.R., 2014. Benchmark study on glyphosate-resistant crop systems in the united states. Economics of herbicide resistance management practices in a 5 year field-scale study. *Pest Management Science* 70, 1924–1929. doi:10.1002/ps.3759
- Efthimiadou, A.P., Karkanis, A.C., Bilalis, D.J., Efthimiadis, P., 2009. Review: The phenomenon of crop-weed competition; a problem or a key for sustainable weed management? *Journal of Food, Agriculture and Environment* 7, 861–868.
- Eissenstat, D.M., 1992. Costs and benefits of constructing roots of small diameter. *Journal of Plant Nutrition* 15, 763–782. doi:10.1080/01904169209364361
- Ekenler, M., Tabatabai, M.A., 2002. B-glucosaminidase activity of soils: Effect of cropping systems and its relationship to nitrogen mineralization. *Biology and Fertility of Soils* 36, 367–376. doi:10.1007/s00374-002-0541-x
- Elsgaard, L., Andersen, G.H., Eriksen, J., 2002. Measurement of arylsulphatase activity in agricultural soils using a simplified assay. *Soil Biology and Biochemistry* 34, 79–82. doi:10.1016/S0038-0717(01)00157-2
- Elsgaard, L., Vinther, F.P., 2004. Modeling of the fine-scale temperature response of arylsulfatase activity in soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 167, 196–201. doi:10.1002/jpln.200321224
- Elshahed, M.S., Youssef, N.H., Spain, A.M., Sheik, C., Najar, F.Z., Sukharnikov, L.O., Roe, B.A., Davis, J.P., Schloss, P.D., Bailey, V.L., Krumholz, L.R., 2008. Novelty and uniqueness patterns of rare members of the soil biosphere. *Applied and Environmental Microbiology* 74, 5422–5428. doi:10.1128/AEM.00410-08
- Engström, L., Lindén, B., 2012. Temporal course of net N mineralization and immobilization in topsoil following incorporation of crop residues of winter oilseed rape, peas and oats in a northern climate. *Soil Use and Management* 28, 436–447. doi:10.1111/sum.12004
- Ereshesky, M., 2010. Microbiology and the species problem. *Biology and Philosophy* 25, 553–568. doi:10.1007/s10539-010-9211-9
- Eriksen, J., 2005. Gross sulphur mineralisation – immobilisation turnover in soil amended with plant residues. *SOIL BIOLOGY AND BIOCHEMISTRY* 37, 2216–2224. doi:10.1016/j.soilbio.2005.04.003
- Evans, D.J., Gibson, C.E., Rossell, R.S., 2006. Sediment loads and sources in heavily modified Irish catchments: A move towards informed management strategies. *Geomorphology* 79, 93–113. doi:10.1016/j.geomorph.2005.09.018
- Evans, J., McNeill, A.M., Unkovich, M.J., Fettell, N.A., Heenan, D.P., 2001. Net nitrogen balances for cool-season grain legume crops and contributions to wheat nitrogen uptake: A review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 41, 347–359. doi:10.1071/EA00036
- Fargione, J., Tilman, D., 2006. Plant species traits and capacity for resource reduction predict yield and abundance under competition in nitrogen-limited grassland. *Functional Ecology* 20, 533–540. doi:10.1111/j.1365-2435.2006.01116.x
- Farrell, M., Hill, P.W., Farrar, J., DeLuca, T.H., Roberts, P., Kielland, K., Dahlgren, R., Murphy, D. V., Hobbs, P.J., Bardgett, R.D., Jones, D.L., 2013. Oligopeptides represent a preferred source of organic N uptake: A global phenomenon? *Ecosystems* 16, 133–145. doi:10.1007/s10021-012-9601-8

- Fennimore, S.A., Jackson, L.E., 2003. Organic amendment and tillage effects on vegetable field weed emergence and seedbanks. *Weed Science* 17, 42–50. doi:10.1614/0890-037X(2003)017
- Fierer, N., Barberan, A., Laughlin, D.C., 2014. Seeing the forest for the genes: Using metagenomics to infer the aggregated traits of microbial communities. *Frontiers in Microbiology* 5, 1–6. doi:10.3389/fmicb.2014.00614
- Fierer, N., Bradford, M.A., Jackson, R.B., 2007. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology* 88, 1354–1364.
- Fierer, N., Jackson, R.B., 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103, 626–631.
- Fierer, N., Lauber, C.L., Ramirez, K.S., Zaneveld, J., Bradford, M.A., Knight, R., 2012a. Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients. *The ISME Journal* 6, 1007–1017. doi:10.1038/ismej.2011.159
- Fierer, N., Leff, J.W., Adams, B.J., Nielsen, U.N., Thomas, S., Lauber, C.L., Owens, S., Gilbert, J.A., Wall, D.H., Caporaso, J.G., 2012b. Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109, 2–7.
- Fierer, N., Strickland, M.S., Liptzin, D., Bradford, M.A., Cleveland, C.C., 2009. Global patterns in belowground communities. *Ecology Letters* 12, 1238–1249. doi:10.1111/j.1461-0248.2009.01360.x
- Fila, G., Sartorato, I., 2011. Using Leaf Mass per Area as predictor of light interception and absorption in crop/weed monoculture or mixed stands. *Agricultural and Forest Meteorology* 151, 575–584. doi:10.1016/j.agrformet.2011.01.004
- Fitter, a. H., Gilligan, C. a., Hollingworth, K., Kleczkowski, a., Twyman, R.M., Pitchford, J.W., 2005. Biodiversity and ecosystem function in soil. *Functional Ecology* 19, 369–377. doi:10.1111/j.1365-2435.2005.00969.x
- Fitzgerald, J.W., 1978. Naturally occurring organosulfur compounds in soil., in: Nriagu, J.O. (Ed.), *Sulfur in the Environment. Part II. Ecological Impacts*. John Wiley and Sons , New York, USA, pp. 391–443.
- Fitzgerald, J.W., Milazzo, F.H., 1970. Arylsulfatase multiplicity in *Proteus rettgeri*. *Canadian Journal of Microbiology* 16, 1109–1115.
- Fontaine, S., Mariotti, A., Abbadie, L., 2003. The priming effect of organic matter: A question of microbial competition? *Soil Biology and Biochemistry* 35, 837–843. doi:10.1016/S0038-0717(03)00123-8
- Forcella, F., Wilson, R.G., Renner, K. a, Dekker, J., Harvey, R.G., Alm, D. a, Buhler, D.D., Cardina, J., 1992. Weed seedbanks of the U.S. Corn Belt: Magnitude, variation, emergence, and application. *Weed Science* 40, 636–644.
- Fort, F., Cruz, P., Jouany, C., 2014. Hierarchy of root functional trait values and plasticity drive early-stage competition for water and phosphorus among grasses. *Functional Ecology* 28, 1030–1040. doi:10.1111/1365-2435.12217
- Franke, A.C., Plotz, L.A., van der Burg, W.J., van Overbeek, L., 2009. The role of arable weed seeds for agroecosystem functioning. *Weed Research* 49, 131–141. doi:10.1111/j.1365-3180.2009.00692.x
- Frankena, J., van Verseveld, H.W., Stouthamer, A.H., 1988. Substrate and energy costs of the production of exocellular enzymes by *Bacillus licheniformis*. *Biotechnology and Bioengineering* 32, 803–812. doi:10.1002/bit.260320612
- Franzluebbers, A.J., Haney, R.L., Honeycutt, C.W., Arshad, M.A., Schomberg, H.H., Hons, F.M., 2001. Climatic influences on active fractions of soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 33, 1103–1111. doi:http://dx.doi.org/10.1016/S0038-0717(01)00016-5
- Fraser, F.C., Hallett, P.D., Wookey, P.A., Hartley, I.P., Hopkins, D.W., 2013. How do enzymes catalysing soil nitrogen transformations respond to changing temperatures? *Biology and Fertility of Soils* 49, 99–103. doi:10.1007/s00374-012-0722-1
- Freckleton, R.P., Watkinson, A.R., Rees, M., 2009. Measuring the importance of competition in plant communities: Forum. *Journal of Ecology* 97, 379–384. doi:10.1111/j.1365-2745.2009.01497.x

- Frick, B., Thomas, A.G., 1992. Weed surveys in different tillage systems in southwestern ontario field crops. *Canadian Journal of Plant Science* 72, 1337–1347.
- Fried, G., 2010. Variations spatiales et temporelles des communautés adventices des cultures annuelles en France. *Acta Botanica Gallica* 157, 183–192. doi:10.1080/12538078.2010.10516198
- Fried, G., Chauvel, B., Reboud, X., 2009. A functional analysis of large-scale temporal shifts from 1970 to 2000 in weed assemblages of sunflower crops in France. *Journal of Vegetation Science* 20, 49–58. doi:10.3170/2008-8-18465
- Fried, G., Kazakou, E., Gaba, S., 2012. Trajectories of weed communities explained by traits associated with species' response to management practices. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 158, 147–155. doi:10.1016/j.agee.2012.06.005
- Fried, G., Norton, L.R., Reboud, X., 2008a. Environmental and management factors determining weed species composition and diversity in France. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 128, 68–76. doi:10.1016/j.agee.2008.05.003
- Fried, G., Petit, S., Dessaint, F., Reboud, X., 2008b. Arable weed decline in Northern France: Crop edges as refugia for weed conservation? *Biological Conservation* 6–11. doi:10.1016/j.biocon.2008.09.029
- Fried, G., Petit, S., Reboud, X., 2010. A specialist-generalist classification of the arable flora and its response to changes in agricultural practices. *BMC Ecology* 10, 1–11.
- Fried, G., Reboud, X., Gasquez, J., Deloz, M., 2007. Le réseau "Biovigilance Flore" : présentation du dispositif et synthèse des premiers résultats, in: AFPP - Vingtième Conférence Du COLUMA Journées Internationales Sur La Lutte Contre Les Mauvaises Herbes - 11 et 12 Décembre 2007. Dijon, pp. 315–325.
- Fried, G., Chauvel, B., Reboud, X., 2015. Weed flora shifts and specialisation in winter oilseed rape in France. *Weed Research* 55, 514–524. doi:10.1111/wre.12164
- Froud-Williams, R.J., Chancellor, R.J., Drennan, D.S.H., 1981. Potential changes in weed floras associated with reduced cultivation systems for cereal production in temperate regions. *Weed Research* 21, 99–109.
- Fryer, J.D., Chancellor, R.J., 1970. Herbicides and our changing weeds. Report of the Botanical Society of the British Isles 11, 105–118.
- Fu, Q., Liu, C., Ding, N., Lin, Y., Guo, B., Luo, J., Wang, H., 2012. Soil microbial communities and enzyme activities in a reclaimed coastal soil chronosequence under rice – barley cropping. *Journal of Soils and Sediments* 12, 1134–1144. doi:10.1007/s11368-012-0544-7
- Fuchs, J.G., Berner, A., Mayer, J., Schleiss, K., 2008. Influence of composts and digestats on soil fertility. *Agrarforschung* 15, 276–281.
- Fustec, J., Lesuffleur, F., Mahieu, S., Cliquet, J.-B., 2010. Nitrogen rhizodeposition of legumes. A review. *Agronomy For Sustainable Development* 30, 57–66. doi:10.1051/agro/2009003
- Fuzeau, V., Dubois, G., Théron, O., Allaire, G., 2012. Diversification des cultures dans l'agriculture française - état des lieux et dispositifs d'accompagnement. Commissariat Général Au Développement Durable - Etudes et Documents 67, 1–24.
- Gaba, S., Fried, G., Kazakou, E., Chauvel, B., Navas, M.L., 2014. Agroecological weed control using a functional approach: A review of cropping systems diversity. *Agronomy for Sustainable Development* 34, 103–119. doi:10.1007/s13593-013-0166-5
- Gabriel, I., Lessire, M., Juin, H., Burstin, J., Duc, G., Quillien, L., Thibault, J.N., Leconte, M., Hallouis, J.M., Ganier, P., Mézière, N., Sève, B., 2008. Variation in seed protein digestion of different pea (*Pisum sativum* L.) genotypes by cecectomized broiler chickens: 1. Endogenous amino acid losses, true digestibility and in vitro hydrolysis of proteins. *Livestock Science* 113, 251–261. doi:10.1016/j.livsci.2007.04.002
- Gajda, A.M., Przewłoka, B., Gawryjolek, K., 2013. Changes in soil quality associated with tillage system applied. *International Agrophysics* 27, 133–141. doi:DOI 10.2478/v10247-012-0078-7
- Gallejones, P., Castellón, a., del Prado, a., Unamunzaga, O., Aizpurua, a., 2012. Nitrogen and sulphur fertilization effect on leaching losses, nutrient balance and plant quality in a wheat-rapeseed rotation

- under a humid Mediterranean climate. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 93, 337–355. doi:10.1007/s10705-012-9520-2
- Gan, Y.T., Campbell, C.A., Janzen, H.H., Lemke, R.L., Basnyat, P., McDonald, C.L., 2009. Carbon input to soil from oilseed and pulse crops on the Canadian prairies. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 132, 290–297. doi:10.1016/j.agee.2009.04.014
- Gan, Y.T.A., Liang, B.C.B., Liu, L.P.C., Wang, X.Y.A., McDonald, C.L.A., 2011. C:N ratios and carbon distribution profile across rooting zones in oilseed and pulse crops. *Crop and Pasture Science* 62, 496–503.
- Gange, A., 2000. Arbuscular mycorrhizal fungi, Collembola and plant growth. *Trends in Ecology and Evolution* 15, 369–372. doi:10.1016/S0169-5347(00)01940-6
- Garbeva, P., van Elsas, J.D., van Veen, J.A., 2008. Rhizosphere microbial community and its response to plant species and soil history. *Plant and Soil* 302, 19–32. doi:10.1007/s11104-007-9432-0
- García-Palacios, P., Maestre, F.T., Milla, R., 2013. Community-aggregated plant traits interact with soil nutrient heterogeneity to determine ecosystem functioning. *Plant and Soil* 364, 119–129. doi:10.1007/s11104-012-1349-6
- Garnier, E., Navas, M., 2012. A trait-based approach to comparative functional plant ecology: concepts, methods and applications for agroecology. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 32, 365–399. doi:10.1007/s13593-011-0036-y
- Garric, A., 2014. « Pesticides, loups, forêts : 5 points de la loi d'avenir de l'agriculture ». *Le Monde.fr*, 11 septembre. http://www.lemonde.fr/planete/article/2014/09/11/pesticides-loups-forets-5-points-de-la-loi-d-avenir-de-l-agriculture_4485787_3244.html
- Gaspari, L., Paris, F., Jandel, C., Kalfa, N., Orsini, M., Dauris, J.P., Sultan, C., 2011. Prenatal environmental risk factors for genital malformations in a population of 1442 French male newborns: A nested casecontrol study. *Human Reproduction* 26, 3155–3162. doi:10.1093/humrep/der283
- Gaudet, C.L., Keddy, P.A., 1988. A Comparative Approach To Predicting Competitive Ability From Plant Traits. *Nature* 334, 242–243. doi:10.1038/334242a0
- Geisseler, D., Horwath, W.R., 2009a. Short-term dynamics of soil carbon, microbial biomass, and soil enzyme activities as compared to longer-term effects of tillage in irrigated row crops. *Biology and Fertility of Soils* 46, 65–72. doi:10.1007/s00374-009-0400-0
- Geisseler, D., Horwath, W.R., 2009b. Relationship between carbon and nitrogen availability and extracellular enzyme activities in soil. *Pedobiologia* 53, 87–98. doi:10.1016/j.pedobi.2009.06.002
- Geisseler, D., Horwath, W.R., 2008. Regulation of extracellular protease activity in soil in response to different sources and concentrations of nitrogen and carbon. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 3040–3048. doi:10.1016/j.soilbio.2008.09.001
- Geisseler, D., Horwath, W.R., Joergensen, R.G., Ludwig, B., 2010. Pathways of nitrogen utilization by soil microorganisms - A review. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 2058–2067. doi:10.1016/j.soilbio.2010.08.021
- Geisseler, D., Horwath, W.R., Scow, K.M., 2011. Soil moisture and plant residue addition interact in their effect on extracellular enzyme activity. *Pedobiologia* 54, 71–78. doi:10.1016/j.pedobi.2010.10.001
- Geisseler, D., Joergensen, R.G., Ludwig, B., 2012. Potential soil enzyme activities are decoupled from microbial activity in dry residue-amended soil. *Pedobiologia* 55, 253–261. doi:10.1016/j.pedobi.2012.04.003
- Geisseler, D., Scow, K.M., 2014. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms - A review. *Soil Biology and Biochemistry* 75, 54–63. doi:10.1016/j.soilbio.2014.03.023
- German, D.P., Chacon, S.S., Allison, S.D., 2011. Substrate concentration and enzyme allocation can affect rates of microbial decomposition. *Ecology* 92, 1471–1480. doi:10.1890/10-2028.1
- Giacometti, C., Scott, M., Cavani, L., Marzadori, C., Ciavatta, C., Kandeler, E., 2013. Chemical and microbiological soil quality indicators and their potential to differentiate fertilization regimes in temperate agroecosystems. *Applied Soil Ecology* 64, 32–48. doi:10.1016/j.apsoil.2012.10.002

- Gibson, D.J., Gage, K.L., Matthews, J.L., Young, B.G., Owen, M.D.K., Wilson, R.G., Weller, S.C., Shaw, D.R., Jordan, D.L., 2013. The effect of weed management systems and location on arable weed species communities in glyphosate-resistant cropping systems. *Applied Vegetation Science* 16, 676–687. doi:10.1111/avsc.12039
- Gispert, M., Emran, M., Pardini, G., Doni, S., Ceccanti, B., 2013. The impact of land management and abandonment on soil enzymatic activity, glomalin content and aggregate stability. *Geoderma* 202–203, 51–61. doi:10.1016/j.geoderma.2013.03.012
- GIS Sol, 2011. L'état des sols de France. Groupement d'intérêt scientifique sur les sols.
- Godoy, O., Valladares, F., Castro-Díez, P., 2012. The relative importance for plant invasiveness of trait means, and their plasticity and integration in a multivariate framework. *New Phytologist* 195, 912–922. doi:10.1111/j.1469-8137.2012.04205.x
- Goldberg, D.E., 1990. Components of resource competition in plant communities, in: Grace, J.B., Tilman, D. (Eds.), *Perspectives on Plant Competition*. Academic Press, San Diego, USA, pp. 27–49.
- Goldberg, D.E., Landa, K., 1991. Competitive Effect and Response - Hierarchies and Correlated Traits in the Early Stages of Competition. *Journal of Ecology* 79, 1013–1030. doi:10.2307/2261095
- Gonzalez-Martin, C., Teigell-Perez, N., Valladares, B., Griffin, D.W., 2014. The global dispersion of pathogenic microorganisms by dust storms and its relevance to agriculture. *Advances in Agronomy* 127, 1–41.
- Goodwin, P.H., Li, J., Jin, S., 2000. Evidence for sulfate derepression of an arylsulfatase gene of *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *malvae* during infection of round-leaved mallow, *Malva pusilla*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 57, 169–176. doi:10.1016/S0378-1097(01)00303-2
- Goulet, F., 2012. La notion d'intensification écologique et son succès auprès d'un certain monde agricole français : une radiographie critique. *Le Courrier de l'Environnement de l'INRA* 62, 19–30.
- Goux, X., Amiaud, B., Piutti, S., Philippot, L., Benizri, E., 2012. Spatial distribution of the abundance and activity of the sulfate ester-hydrolyzing microbial community in a rape field. *Journal of Soils and Sediments* 12, 1360–1370. doi:10.1007/s11368-012-0555-4
- Griffith, S.M., Banowetz, G.M., Dick, R.P., Mueller-Warrant, G.W., Whittaker, G.W., 2010. Western Oregon Grass Seed Crop Rotation and Straw Residue Effects on Soil Quality. *AGRONOMY JOURNAL* 103, 1124–1131. doi:10.2134/agronj2010.0504
- Griffith, T., Sultan, S.E., 2012. Field-based insights to the evolution of specialization: Plasticity and fitness across habitats in a specialist/generalist species pair. *Ecology and Evolution* 2, 778–791. doi:10.1002/ece3.202
- Griffiths, B.S., Ritz, K., Wheatley, R., Kuan, H.L., Boag, B., Christensen, S., Ekelund, F., Sørensen, S.J., Muller, S., Bloem, J., 2001. An examination of the biodiversity - ecosystems function relationship in arable soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* 33, 1713–1722.
- Griffon, M., 2004. La Révolution doublement verte, in: Académie d'Agriculture de France. Séance Du 5 Mai 2004. Paris, France, p. 3.
- Grigulis, K., Lavorel, S., Krainer, U., Legay, N., Baxendale, C., Dumont, M., Kastl, E., Arnoldi, C., Bardgett, R.D., Poly, F., Pommier, T., Schloter, M., Tappeiner, U., Bahn, M., Clément, J.-C., 2013. Relative contributions of plant traits and soil microbial properties to mountain grassland ecosystem services. *Journal of Ecology* 101, 47–57. doi:10.1111/1365-2745.12014
- Grime, J.P., 1977. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *The American Naturalist* 111, 1169–1194.
- Grime, J.P., 2006. Trait convergence and trait divergence in herbaceous plant communities: Mechanisms and consequences. *Journal of Vegetation Science* 17, 255–260. doi:10.1111/j.1654-1103.2006.tb02444.x
- Grime, J.P., 2001. *Plant strategies, vegetation processes, and ecosystem properties*. John Wiley and Sons Ltd, Chichester, UK.
- Grime, J.P., Thompson, K., Hunt, R., Hodgson, J.G., Rorison, J.H.C.C.I.H., Hendry, G.A.F., Ashenden, T.W., Askew, A.P., Band, S.R., Booth, R.E., Bossard, C.C., Campbell, B.D., Cooper, J.E.L., Davison, A.W., Gupta, P.L., Hall, W., Hand, D.W., Hannah, M.A., Hillier, S.H., Hodgkinson, D.J., Jalili, A., Liu, Z., Mackey, J.M.L., Matthews,

- N., Mowforth, M.A., Neal, A.M., Reader, R.J., Reiling, K., Ross-Fraser, W., Spencer, R.E., Sutton, F., Tasker, D.E., Thorpe, P.C., Whitehouse, J., 1997. Integrated screening validates primary axes of specialisation in plants. *Oikos* 79, 259–281.
- Grundy, A.C., Mead, A., Bond, W., Clark, G., Burston, S., 2011. The impact of herbicide management on long-term changes in the diversity and species composition of weed populations. *Weed Research* 51, 187–200. doi:10.1111/j.1365-3180.2010.00831.x
- Grundy, A.C., Mead, a., Burston, S., 2003. Modelling the emergence response of weed seeds to burial depth: Interactions with seed density, weight and shape. *Journal of Applied Ecology* 40, 757–770. doi:10.1046/j.1365-2664.2003.00836.x
- Gschwendtner, S., Reichmann, M., Müller, M., Radl, V., Munch, J.C., 2010. Abundance of bacterial genes encoding for proteases and chitinases in the rhizosphere of three different potato cultivars. *Biology and Fertility of Soils* 46, 649–652. doi:10.1007/s00374-010-0460-1
- Gunapala, N., Scow, K.M., Venette, R.C., Ferris, H., 1998. Effects of soil management history on the rate of organic matter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry* 30, 1917–1927. doi:10.1016/S0038-0717(98)00062-5
- Gunton, R.M., Petit, S., Gaba, S., 2011. Functional traits relating arable weed communities to crop characteristics. *Journal of Vegetation Science* 22, 541–550. doi:10.1111/j.1654-1103.2011.01273.x
- Gupta, V.V.S.R., Lawrence, J.R., Germida, J.J., 1988. Impact of Elemental Sulfur Fertilization on Agricultural Soils. I. Effects on microbial biomass and enzyme activities. *Canadian Journal of Soil Science* 68, 463–473. doi:10.4141/cjss88-046
- Gupta, R., Beg, Q.K., Lorenz, P., 2002. Bacterial alkaline proteases : molecular approaches and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology* 59, 15–32. doi:10.1007/s00253-002-0975-y
- Gutser, R., Ebertseder, T., Weber, A., Schraml, M., Schmidhalter, U., 2005. Short-term and residual availability of nitrogen after long-term application of organic fertilizers on arable land. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 168, 439–446. doi:10.1002/jpln.200520510
- Hald, A.B., 1999. Weed vegetation (wild flora) of long established organic versus conventional cereal fields in Denmark. *Annals of Applied Biology* 134, 307–314. doi:10.1111/j.1744-7348.1999.tb05269.x
- Hallgren, E., Palmer, M.W., Milberg, P.E.R., 1999. Data diving with cross-validation : an investigation of broad-scale gradients in Swedish weed communities. *Journal of Ecology* 87, 1037–1051.
- Haney, R.L., Franzluebbers, A.J., Jin, V.L., Johnson, M.-V., Haney, E.B., White, M.J., Harmel, R.D., 2012. Soil Organic C:N vs . Water-Extractable Organic C:N. *Open Journal of Soil Science* 2, 269–274. doi:10.4236/ojss.2012.23032
- Hanzlik, K., Gerowitt, B., 2011. The importance of climate, site and management on weed vegetation in oilseed rape in Germany. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 141, 323–331. doi:10.1016/j.agee.2011.03.010
- Harlan, J.R., de Wet, J.M.J., 1965. Some thoughts about weeds. *Economic Botany* 19, 16–24.
- Hart, M.R., Quin, B.F., Nguyen, M.L., 2004. Phosphorus Runoff from Agricultural Land and Direct Fertilizer Effects: A Review. *Journal of Environmental Quality* 33, 1954–1972.
- Hartley, B.S., 1960. Proteolytic enzymes. *Annual Review of Biochemistry* 29, 45–72.
- Häse, C.C., Finkelstein, R.A., 1993. Bacterial extracellular zinc-containing metalloproteases. *Microbiological Reviews* 57, 823–837.
- Hayano, K., Takeuchi, M., Iehishima, E., 1987. Characterization of a metalloproteinase component extracted from soil. *Biology and Fertility of Soils* 4, 179–183.
- Herben, T., Goldberg, D.E., 2014. Community assembly by limiting similarity vs. competitive hierarchies: Testing the consequences of dispersion of individual traits. *Journal of Ecology* 102, 156–166. doi:10.1111/1365-2745.12181

- Herridge, D.F., Peoples, M.B., Boddey, R.M., 2008. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. *Plant and Soil* 311, 1–18. doi:10.1007/s11104-008-9668-3
- Hill, P.W., Farrell, M., Jones, D.L., 2012. Bigger may be better in soil N cycling: Does rapid acquisition of small L-peptides by soil microbes dominate fluxes of protein-derived N in soil? *Soil Biology and Biochemistry* 48, 106–112. doi:10.1016/j.soilbio.2012.01.023
- Hill, P.W., Marsden, K.A., Jones, D.L., 2013. How significant to plant N nutrition is the direct consumption of soil microbes by roots? *New Phytologist* 199, 948–955.
- Hill, P.W., Quilliam, R.S., DeLuca, T.H., Farrar, J., Farrell, M., Roberts, P., Newsham, K.K., Hopkins, D.W., Bardgett, R.D., Jones, D.L., 2011. Acquisition and assimilation of nitrogen as peptide-bound and D-enantiomers of amino acids by wheat. *PloS One* 6, e19220. doi:10.1371/journal.pone.0019220
- Hoagland, R.E., 2001. Microbial allelochemicals and pathogens as bioherbicidal agents. *Weed Technology* 15, 835–857. doi:10.1614/0890-037X(2001)015{[}0835:MAAPAB]2.0.CO;2
- Hofmockel, K.S., Fierer, N., Colman, B.P., Jackson, R.B., 2010. Amino acid abundance and proteolytic potential in North American soils. *Oecologia* 163, 1069–1078. doi:10.1007/s00442-010-1601-9
- Hooper, D.U., Chapin, F.S., Ewel, J.J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., Lawton, J.H., Lodge, D.M., Loreau, M., Naeem, S., Schmid, B., Setälä, H., Symstad, A.J., Vandermeer, J., Wardle, D.A., 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: A consensus of current knowledge. *Ecological Monographs* 75, 3–35. doi:10.1890/04-0922
- Hoppin, J.A., Umbach, D.M., London, S.J., Alavanja, M.C.R., Sandler, D.P., 2002. Chemical predictors of wheeze among farmer pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 165, 683–689. doi:10.1164/rccm.2106074
- Hu, Y., Jung, K., Zeng, D., Chang, S.X., 2013. Nitrogen- and sulfur-deposition-altered soil microbial community functions and enzyme activities in a boreal mixedwood forest in western Canada. *Canadian Journal of Forest Research* 43, 777–784.
- Hume, I., 1987. Long-term effects of 2,4-D application on plants .1. Effects on the weed community in a wheat crop. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne de Botanique* 65, 2530–2536.
- Hurisso, T.T., Norton, J.B., Mukhwana, E.J., Norton, U., 2015. Soil organic carbon and nitrogen fractions and sugar beet sucrose yield in furrow-irrigated agroecosystems. *Soil Science Society of America Journal* 79, 876. doi:10.2136/sssaj2015.02.0073
- Hutchinson, G.E., 1957. Concluding remarks, in: *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. pp. 415–427.
- Hütsch, B.W., Augustin, J., Merbach, W., 2002. Plant rhizodeposition - An important source for carbon turnover in soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 165, 397–407. doi:10.1002/1522-2624(200208)165:4<397::AID-JPLN397>3.0.CO;2-C
- Hyvönen, T., Ketoja, E., Salonen, J., Jalli, H., Tiainen, J., 2003. Weed species diversity and community composition in organic and conventional cropping of spring cereals. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 97, 131–149. doi:10.1016/S0167-8809(03)00117-8
- Hyvönen, T., Salonen, J., 2002. Weed species diversity and community composition in cropping practices at two intensity levels—a six-year experiment. *Plant Ecology* 73–81.
- Inselsbacher, E., Hinko-Najera Umana, N., Stange, F.C., Gorfer, M., Schüller, E., Ripka, K., Zechmeister-Boltenstern, S., Hood-Novotny, R., Strauss, J., Wanek, W., 2010. Short-term competition between crop plants and soil microbes for inorganic N fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 360–372. doi:10.1016/j.soilbio.2009.11.019
- Jamal, A., Moon, Y.S., Abdin, M.Z., 2010. Sulphur -a general overview and interaction with nitrogen. *Australian Journal of Crop Science* 4, 523–529.
- Jan, M.T., Roberts, P., Tonheim, S.K., Jones, D.L., 2009. Protein breakdown represents a major bottleneck in nitrogen cycling in grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 2272–2282. doi:10.1016/j.soilbio.2009.08.013

- Janssen, P.H., 2006. Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. *Applied and Environmental Microbiology* 72, 1719–1728. doi:10.1128/AEM.72.3.1719
- Janzen, H.H., 1990. Deposition of nitrogen into the rhizosphere by wheat roots. *Soil Biology and Biochemistry* 22, 1155–1160. doi:10.1016/0038-0717(90)90043-Y
- Janzen, H.H., Bole, J., Biederbeck, V.O., Slinkard, A.E., 1990. Fate of N applied as green manure or ammonium fertilizer to soil subsequently cropped with spring wheat at three sites in western Canada. *Canadian Journal of Soil Science* 70, 313–323.
- Jastrzębska, M., Jastrzębski, W.P., Hołdyński, C., Kostrzewska, M.K., 2013. Weed species diversity in organic and integrated farming systems. *Acta Agrobotanica* 66, 113–124. doi:10.5586/aa.2013.045
- Jauzein, P., 2001. Biodiversité des champs cultivés: L'enrichissement floristique. *Dossier de L'environnement de l'INRA* 21, 43–64.
- Jax, K., 2005. Function and “functioning” in ecology : What does it mean? *Oikos* 3, 641–648.
- Jennings, P.R., Aquino, R.C., 1968. Studies on competition in rice. III. The mechanism of competition among phenotypes. *Evolution* 22, 529–542.
- Jensen, E.S., 1997. Nitrogen immobilization and mineralization during initial decomposition of 15N-labelled pea and barley residues. *Biology and Fertility of Soils* 24, 39–44.
- Jensen, E.S., 1996a. Nitrogen acquisition by pea and barley and the effect of their crop residues on available nitrogen for subsequent crops. *Biology and Fertility of Soils* 23, 459–464. doi:10.1007/BF00335923
- Jensen, E.S., 1996b. Compared cycling in a soil-plant system of pea and barley residue nitrogen. *Plant and Soil* 182, 13–23.
- Jensen, E.S., 1996c. Rhizodeposition of N by pea and barley and its effect on soil N dynamics. *Soil Biology and Biochemistry* 28, 65–71.
- Joergensen, R.G., Schmaedeke, F., Windhorst, K., Meyer, B., 1995. Biomass and activity of microorganisms fuel oil contaminated soil. *Soil Biology and Biochemistry* 27, 1137–1143.
- Johnson, W.C., Mullinix, B.G., 1995. Weed management in peanut using stale seedbed techniques. *Weed Science* 43, 293–297.
- Jones, D.L., Clode, P.L., Kilburn, M.R., Stockdale, E.A., Murphy, D. V., 2013. Competition between plant and bacterial cells at the microscale regulates the dynamics of nitrogen acquisition in wheat (*Triticum aestivum*). *New Phytologist* 200, 796–807. doi:10.1111/nph.12405
- Jones, D.L., Healey, J.R., Willett, V.B., Farrar, J.F., Hodge, A., 2005. Dissolved organic nitrogen uptake by plants — an important N uptake pathway? *Soil Biology and Biochemistry* 37, 413–423. doi:10.1016/j.soilbio.2004.08.008
- Jones, D.L., Shannon, D., Murphy, D. V., Farrar, J., 2004. Role of dissolved organic nitrogen (DON) in soil N cycling in grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 749–756. doi:10.1016/j.soilbio.2004.01.003
- Jorge-Mardomingo, I., Soler-rovira, P., Casermeiro, M.Á., de la Cruz, M.T., Polo, A., 2013. Seasonal changes in microbial activity in a semiarid soil after application of a high dose of different organic amendments. *Geoderma* 206, 40–48. doi:10.1016/j.geoderma.2013.04.025
- Jung, K.-T., Kim, H.-W., You, D.-J., Nam, S.-W., Kim, B.-W., Jeon, S.-J., 2012. Identification of the first archaeal arylsulfatase from *Pyrococcus furiosus* and its application to desulfatation of agar. *Biotechnology and Bioengineering* 17, 1140–1146. doi:10.1007/s12257-012-0228-6
- Kalisz, H.M., 1988. Microbial proteinases. *Advances in Biochemical Engineering* 36, 1–65.
- Kallenbach, C., Grandy, A.S., 2011. Controls over soil microbial biomass responses to carbon amendments in agricultural systems: A meta-analysis. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 144, 241–252. doi:10.1016/j.agee.2011.08.020
- Kaprelyants, A.S., Gottschal, J.C., Kell, D.B., 1993. Dormancy In Non-Sporulating Bacteria. *Fems Microbiology Letters* 104, 271–286. Doi:10.1111/J.1574-6968.1993.tb05871.x

- Karim, S.M.R., 2000. Competitive ability of volunteer crops grown as weed. *Pakistan Journal of Agricultural Research* 16, 142–146.
- Kearney, M., Simpson, S.J., Raubenheimer, D., Helmuth, B., 2010. Modelling the ecological niche from functional traits. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 365, 3469–3483. doi:10.1098/rstb.2010.0034
- Kertesz, M.A., 1999. Riding the sulfur cycle - metabolism of sulfonates and sulfate esters in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 24, 135–175. doi:10.1016/S0168-6445(99)00033-9
- Kertesz, M.A., Kolbener, P., Stockinger, H., Beil, S., Cook, A.M., 1993. Desulfonation of linear alkylbenzenesulfonate surfactants and related-compounds by bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 60, 2296–2303.
- Kikvidze, Z., Brooker, R., 2010. Towards a more exact definition of the importance of competition - a reply to Freckleton et al. (2009). *Journal of Ecology* 98, 719–724. doi:10.1111/j.1365-2745.2010.01660.x
- Kirrane, E.F., Hoppin, J.A., Kamel, F., Umbach, D.M., Boyes, W.K., DeRoos, A.J., Alavanja, M., Sandler, D.P., 2005. Retinal degeneration and other eye disorders in wives of farmer pesticide applicators enrolled in the agricultural health study. *American Journal of Epidemiology* 161, 1020–1029. doi:10.1093/aje/kwi140
- Kjoller, R., Rosendahl, S., 2001. Molecular diversity of glomalean (arbuscular mycorrhizal) fungi determined as distinct *Glomus* specific DNA sequences from roots of field grown peas fungi. *Mycological Research* 105, 1027–1032. doi:10.1016/S0953-7562(08)61964-4
- Klaubauf, S., Inselsbacher, E., Zechmeister-Boltenstern, S., Wanek, W., Gottsberger, R., Strauss, J., Gorfer, M., 2010. Molecular diversity of fungal communities in agricultural soils from Lower Austria. *Fungal Diversity* 44, 65–75.
- Kleemann, S.G.L., Gill, G.S., 2006. Differences in the distribution and seed germination behaviour of populations of *Bromus rigidus* and *Bromus diandrus* in South Australia: Adaptations to habitat and implications for weed management. *Australian Journal of Agricultural Research* 57, 213–219. doi:10.1071/AR05200
- Kleyer, M., 1999. Distribution of plant functional types along gradients of disturbance intensity and resource supply in an agricultural landscape. *Journal of Vegetation Science* 10, 697–708. doi:10.2307/3237084
- Klose, S., Moore, J., Tabatabai, M., 1999. Arylsulfatase activity of microbial biomass in soils as affected by cropping systems. *Biology and Fertility of Soils* 29, 46–54.
- Klose, S., Tabatabai, M.A., 1999. Arylsulfatase activity of microbial biomass in soils. *SOIL SCIENCE SOCIETY OF AMERICA JOURNAL* 63, 569–574.
- Klose, S., Tabatabai, M.A., 2000. Urease activity of microbial biomass in soils as affected by cropping systems. *Biology and Fertility of Soils* 31, 191–199. doi:10.1007/s003740050645
- Knauff, U., Schulz, M., Scherer, H.W., 2003. Arylsulfatase activity in the rhizosphere and roots of different crop species. *European Journal of Agronomy* 19, 215–223.
- Knezevic, S.Z., Evans, S.P., Blankenship, E.E., Van Acker, R.C., Lindquist, J.L., 2002. Critical period for weed control: The concept and data analysis. *Weed Science* 50, 773–786. doi:10.1614/0043-1745(2002)050[0773:CPFWCT]2.0.CO;2
- Knights, J.S., Zhao, F.J., Mcgrath, S.P., Magan, N., 2001. Long-term effects of land use and fertiliser treatments on sulphur transformations in soils from the Broadbalk experiment. *Soil Biology and Biochemistry* 33, 1797–1804.
- Knops, J.M.H., Bradley, K.L., Wedin, D.A., 2002. Mechanisms of plant species impacts on ecosystem nitrogen cycling. *Ecology Letters* 5, 454–466. doi:10.1046/j.1461-0248.2002.00332.x
- Koide, R.T., Fernandez, C., Malcolm, G., 2014. Determining place and process: Functional traits of ectomycorrhizal fungi that affect both community structure and ecosystem function. *New Phytologist* 201, 433–439. doi:10.1111/nph.12538
- Kolářová, M., Tyšer, L., Soukup, J., 2013. Diversity of current weed vegetation on arable land in selected areas of the Czech Republic. *Plant, Soil and Environment* 59, 208–213.

- Korsaeth, A., Molstad, L., Bakken, L.R., 2001. Modelling the competition for nitrogen between plants and microflora as a function of soil heterogeneity. *Soil Biology and Biochemistry* 33, 215–226. doi:10.1016/S0038-0717(00)00132-2
- Körschens, M., Albert, E., Armbruster, M., Barkusky, D., Baumecker, M., Behle-Schalk, L., Bischoff, R., Čěrgan, Z., Ellmer, F., Herbst, F., Hoffmann, S., Hofmann, B., Kismanyoky, T., Kubat, J., Kunzova, E., Lopez-Fando, C., Merbach, I., Merbach, W., Pardor, M.T., Rogasik, J., Rühlmann, J., Spiegel, H., Schulz, E., Tajnsek, A., Toth, Z., Wegener, H., Zorn, W., 2012. Effect of mineral and organic fertilization on crop yield, nitrogen uptake, carbon and nitrogen balances, as well as soil organic carbon content and dynamics: Results from 20 European long-term field experiments of the twenty-first century. *Archives of Agronomy and Soil Science* 1–24. doi:10.1080/03650340.2012.704548
- Kostrzewska, M.K., Jastrzębska, M., Treder, K., Wanic, M., 2014. Diversity of segetal weeds in pea (*Pisum sativum* L.) depending on crops chosen for a crop rotation system. *Acta Agrobotanica* 67, 55–66. doi:10.5586/aa.2014.008
- Kostrzewska, M.K., Wanic, M., Jastrz, M., 2012. Weed Infestation of a cereal-legume mixture depending on its concentration and position in a crop rotation. *Acta Agrobotanica* 65, 99–108.
- Kotková, B., Balík, J., Čěrný, J., Kulhánek, M., Bazalová, M., 2008. Crop influence on mobile sulphur content and arylsulphatase activity in the plant rhizosphere. *Plant Soil and Environment* 54, 100–107.
- Kruidhof, H.M., Bastiaans, L., Kropff, M.J., 2008. Ecological weed management by cover cropping : Effects on weed growth in autumn and weed establishment in spring. *Weed Research* 48, 492–502.
- Krupa, S. V., 2003. Effects of atmospheric ammonia (NH₃) on terrestrial vegetation: A review. *Environmental Pollution* 124, 179–221. doi:10.1016/S0269-7491(02)00434-7
- Kuka, K., Franko, U., Rühlmann, J., 2007. Modelling the impact of pore space distribution on carbon turnover. *Ecological Modelling* 208, 295–306. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2007.06.002
- Kumar, K., Goh, K.M., 2002. Management practices of antecedent leguminous and non-leguminous crop residues in relation to winter wheat yields, nitrogen uptake, soil nitrogen mineralization and simple nitrogen balance. *European Journal of Agronomy* 16, 295–308.
- Kunstler, G., Lavergne, S., Courbaud, B., Thuiller, W., Vieilledent, G., Zimmermann, N.E., Kattge, J., Coomes, D.A., 2012. Competitive interactions between forest trees are driven by species' trait hierarchy, not phylogenetic or functional similarity: Implications for forest community assembly. *Ecology Letters* 15, 831–840. doi:10.1111/j.1461-0248.2012.01803.x
- Kuzyakov, Y., Schneckenberger, K., 2004. Review of estimation of plant rhizodeposition and their contribution to soil organic matter formation. *Archives of Agronomy and Soil Science* 50, 115–132. doi:10.1080/03650340310001627658
- Ladd, J.N., Oades, J.M., Amato, M., 1981. Distribution and recovery of nitrogen from legume residues decomposing in soils sown to wheat in the field. *Soil Biology and Biochemistry* 13, 251–256. doi:10.1016/0038-0717(81)90058-4
- Ladha, J.K., Reddy, C.K., Padre, A.T., van Kessel, C., 2011. Role of nitrogen fertilization in sustaining organic matter in cultivated soils. *Journal of Environmental Quality* 40, 1756–1766.
- Larousse, 2015. Micro-organisme. URL http://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/micro-organisme_micro-organismes/51283 (accessed 6.24.15).
- Larsen, P.E., Gibbons, S.M., Gilbert, J.A., 2012. Modeling microbial community structure and functional diversity across time and space. *FEMS Microbiology Letters* 332, 91–98. doi:10.1111/j.1574-6968.2012.02588.x
- Lauber, C.L., Hamady, M., Knight, R., Fierer, N., 2009. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Applied and Environmental Microbiology* 75, 5111–5120. doi:10.1128/AEM.00335-09
- Lauber, C.L., Strickland, M.S., Bradford, M.A., Fierer, N., 2008. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 2407–2415. doi:10.1016/j.soilbio.2008.05.021

- Lauringson, E., Talgre, L., Roostalu, H., Vipper, H., 2004. The effect of tillage and crop rotation on the content of available nitrogen, phosphorus and potassium. *Agronomy Research* 2, 63–70.
- Lavorel, S., Garnier, E., 2002. Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: Revisiting the Holy Grail. *Functional Ecology* 16, 545–556.
- Le Roux, X., Recous, S., Attard, E., 2011. Soil microbial diversity in grasslands and its importance for grassland functioning and services, in: Lemaire, G., Hodgson, J., Chabbi, A. (Eds.), *Grassland Productivity and Ecosystem Services*. CAB International, Wallingford, Royaume-Uni, pp. 158–165.
- Lee, S.S., Abd El-Azeem, S.A.M., Lim, J.E., Rajapaksha, A.U., Kim, K.R., Lee, Y.H., Lee, Y.B., Chang, Y.Y., Ok, Y.S., 2013. Efficacy of rapeseed residue and eggshell waste on enzyme activity and soil quality in rice paddy. *Chemistry and Ecology* 29, 501–510. doi:10.1080/02757540.2013.810725
- Leeson, J.Y., Sheard, J.W., Thomas, A.G., 2000. Weed communities associated with arable Saskatchewan farm management systems. *Canadian Journal of Plant Science* 80, 177–185. doi:10.4141/P99-039
- Legay, N., Personeni, E., Slezack-Deschaumes, S., Piutti, S., Cliquet, J.B., 2014. Grassland species show similar strategies for sulphur and nitrogen acquisition. *Plant and Soil* 375, 113–126. doi:10.1007/s11104-013-1949-9
- Légère, A., Stevenson, F.C., Benoit, D.L., 2005. Diversity and assembly of weed communities: Contrasting responses across cropping systems. *Weed Research* 45, 303–315.
- Lemanowicz, J., Siwik-Ziomek, A., Koper, J., 2014. Effects of farmyard manure and nitrogen fertilizers on mobility of phosphorus and sulphur in wheat and activity of selected hydrolases in soil. *International Agrophysics* 28, 49–55. doi:10.2478/intag-2013-0026
- Lemerle, D., Verbeek, B., Orchard, B., 2001. Ranking the ability of wheat varieties to compete with *Lolium rigidum*. *Weed Research* 41, 197–209. doi:10.1046/j.1365-3180.2001.00232.x
- Li, R., Khafipour, E., Krause, D.O., Entz, M.H., de Kievit, T.R., Fernando, W.G.D., 2012. Pyrosequencing reveals the influence of organic and conventional farming systems on bacterial communities. *PLoS ONE* 7, e51897. doi:10.1371/journal.pone.0051897
- Liancourt, P., Tielbörger, K., Bangerter, S., Prasse, R., 2009. Components of “competitive ability” in the LHS model: Implication on coexistence for twelve co-occurring Mediterranean grasses. *Basic and Applied Ecology* 10, 707–714. doi:10.1016/j.baae.2009.05.003
- Liebman, M., Davis, A.S., 2000. Integration of soil, crop and weed management in low-external input farming systems. *Weed Research* 40, 27–47.
- Liebman, M., Dyck, E., 1993. Crop Rotation and intercropping strategies for weed management. *Ecological Applications* 3, 92–122.
- Lipiec, J., Kuś, J., Słowińska-Jurkiewicz, A., Nosalewicz, A., 2006. Soil porosity and water infiltration as influenced by tillage methods. *Soil and Tillage Research* 89, 210–220. doi:10.1016/j.still.2005.07.012
- Lipson, D.A., Monson, R.K., Schmidt, S.K., Weintraub, M.N., 2009. The trade-off between growth rate and yield in microbial communities and the consequences for under-snow soil respiration in a high elevation coniferous forest. *Biogeochemistry* 95, 23–35. doi:10.1007/s10533-008-9252-1
- Liu, D., Fang, S., Tian, Y., Dun, X., 2012. Variation in rhizosphere soil microbial index of tree species on seasonal flooding land: An in situ rhizobox approach. *Applied Soil Ecology* 59, 1–11. doi:10.1016/j.apsoil.2012.03.014
- Liu, X., Herbert, S.J., Hashemi, A.M., Zhang, X., Ding, G., 2006. Effects of agricultural management on soil organic matter and carbon transformation – a review. *Plant, Soil and Environment* 52, 531–543.
- Long, A., Heitman, J., Tobias, C., Philips, R., Song, B., 2013. Co-occurring anammox, denitrification, and codenitrification in agricultural soils. *Applied and Environmental Microbiology* 79, 168–176. doi:10.1128/AEM.02520-12
- Long, M., Ruan, L., Yu, Z., Xu, X., 2011. Genome sequence of *Pseudomonas* sp. strain S9, an extracellular arylsulfatase-producing bacterium isolated from Mangrove soil. *Journal of Bacteriology* 193, 4041. doi:10.1128/JB.05216-11

- López-Bellido, L., Benítez-Vega, J., García, P., Redondo, R., López-Bellido, R.J., 2011. Tillage system effect on nitrogen rhizodeposited by faba bean and chickpea. *Field Crops Research* 120, 189–195. doi:10.1016/j.fcr.2010.10.001
- Lopez-Fando, C., Almendros, G., 1995. Interactive effects of tillage and crop rotations on yield and chemical properties of soils in semi-arid central Spain. *Soil and Tillage Research* 36, 45–57. doi:10.1016/0167-1987(95)00495-5
- López-Garrido, R., Deurer, M., Madejón, E., Murillo, J.M., Moreno, F., 2012. Tillage influence on biophysical soil properties: The example of a long-term tillage experiment under Mediterranean rainfed conditions in South Spain. *Soil and Tillage Research* 118, 52–60. doi:10.1016/j.still.2011.10.013
- López-Garrido, R., Madejón, E., Murillo, J.M., Moreno, F., 2011. Soil quality alteration by mouldboard ploughing in a commercial farm devoted to no-tillage under Mediterranean conditions. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 140, 182–190. doi:10.1016/j.agee.2010.12.001
- Lososová, Z., Chytrý, M., Kühn, I., 2008. Plant attributes determining the regional abundance of weeds on central European arable land. *Journal of Biogeography* 35, 177–187. doi:10.1111/j.1365-2699.2007.01778.x
- Lososová, Z., Chytrý, M., Kühn, I., Hájek, O., Horáková, V., Pyšek, P., Tichý, L., 2006. Patterns of plant traits in annual vegetation of man-made habitats in central Europe. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 8, 69–81. doi:10.1016/j.ppees.2006.07.001
- Ludley, K.E., Robinson, C.H., 2008. “Decomposer” Basidiomycota in Arctic and Antarctic ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 11–29. doi:10.1016/j.soilbio.2007.07.023
- Lupwayi, N.Z., Clayton, G.W., O’Donovan, J.T., Harker, K.N., Turkington, T.K., Soon, Y.K., 2006. Nitrogen release during decomposition of crop residues under conventional and zero tillage. *Canadian Journal of Soil Science* 86, 11–19. doi:10.1016/j.still.2007.01.007
- MacArthur, R., Levins, R., 1967. The limiting similarity, convergence, and divergence of coexisting species. *The American Naturalist* 101, 377–385.
- MacArthur, R., Wilson, E.O., 1967. *The theory of island biogeography*. Princeton University Press, Princeton, USA.
- McDaniel, M.D., Tiemann, L.K., Grandy, a. S., 2014. Does agricultural crop diversity enhance soil microbial biomass and organic matter dynamics? A meta-analysis. *Ecological Applications* 24, 560–570. doi:10.1890/13-0616.1
- Madejón, E., Murillo, J.M., Moreno, F., López, M. V., Arrue, J.L., Alvaro-Fuentes, J., Cantero, C., 2009. Effect of long-term conservation tillage on soil biochemical properties in Mediterranean Spanish areas. *Soil and Tillage Research* 105, 55–62. doi:10.1016/j.still.2009.05.007
- Mäder, P., Fließbach, A., Dubois, D., Gunst, L., Fried, P., Niggli, U., 2002. Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science* 296, 1694–1698. doi:10.1126/science.1071148
- Mahn, E.G., 1984. Structural changes of weed communities and populations. *Vegetatio* 58, 79–85.
- Maidl, F.X., Haunz, F.X., Panse, A., Fischbeck, G., 1996. Transfer of grain legume nitrogen within a crop rotation containing winter wheat and winter barley. *Journal of Agronomy and Crop Science* 176, 47–57. doi:10.1111/j.1439-037X.1996.tb00445.x
- Maillard, É., Angers, D.A., 2014. Animal manure application and soil organic carbon stocks: A meta-analysis. *Global Change Biology* 20, 666–679. doi:10.1111/gcb.12438
- Maire, V., Soussana, J.F., Gross, N., Bachelet, B., Pagès, L., Martin, R., Reinhold, T., Wirth, C., Hill, D., 2013. Plasticity of plant form and function sustains productivity and dominance along environment and competition gradients. A modeling experiment with Gemini. *Ecological Modelling* 254, 80–91. doi:10.1016/j.ecolmodel.2012.03.039
- Majeed, M.Z., Miambi, E., Barois, I., Blanchart, E., Brauman, A., 2013. Emissions of nitrous oxide from casts of tropical earthworms belonging to different ecological categories. *Pedobiologia* 56, 49–58. doi:10.1016/j.pedobi.2012.10.003

- Malaterre, C., 2013. Microbial diversity and the “lower-limit” problem of biodiversity. *Biology and Philosophy* 28, 219–239. doi:10.1007/s10539-012-9356-9
- Małacka, I., Blecharczyk, A., Sawinska, Z., Dobrzeński, T., 2012. The effect of various long-term tillage systems on soil properties and spring barley yield. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 36, 217–226. doi:10.3906/tar-1104-20
- Mamarot, J., Rodriguez, A., 2011. Mauvaises herbes des cultures. ACTA-Le réseau des instituts des filières animales et végétales, Paris.
- Mancinelli, R., Marinari, S., di Felice, V., Savin, M.C., Campiglia, E., 2013. Soil property, CO₂ emission and aridity index as agroecological indicators to assess the mineralization of cover crop green manure in a Mediterranean environment. *Ecological Indicators* 34, 31–40. doi:10.1016/j.ecolind.2013.04.011
- Manlay, 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, 217–233. doi:10.1016/j.agee.2006.07.011
- Marinari, S., Bonifacio, E., Moscatelli, M.C., Falsone, G., Antisari, L.V., Vianello, G., 2013. Soil development and microbial functional diversity: Proposal for a methodological approach. *Geoderma* 192, 437–445. doi:10.1016/j.geoderma.2012.08.023
- Marouf, A., Reynaud, J., 2007. La botanique de A à Z. Dunod, Paris, France.
- Marra, M.C., Carlson, G.A., 1983. An economic threshold-model for weeds in soybeans (*Glycine max*). *Weed Science* 31, 604–609.
- Martínez-Ghersa, M.A., Ghersa, C.M., Satorre, E.H., 2000. Coevolution of agricultural systems and their weed companions: Implications for research. *Field Crops Research* 67, 181–190. doi:10.1016/S0378-4290(00)00092-7
- Marzluf, G.A., 1994. Genetics and molecular-genetics of sulfur assimilation in the fungi, in: Hall, J., Dunlap, J. (Eds), *Advances In Genetics*. Academic Press Inc, San Diego, USA, pp. 187–206. doi:10.1016/S0065-2660(08)60398-3
- Mason, H.E., Navabi, A., Frick, B.L., O'Donovan, J.T., Spaner, D.M., 2007. The weed-competitive ability of Canada western red spring wheat cultivars grown under organic management. *Crop Science* 47, 1167–1176. doi:10.2135/cropsci2006.09.0566
- Mayer, J., Buegger, F., Jensen, E.S., Schlöter, M., Heß, J., 2004. Turnover of grain legume N rhizodeposits and effect of rhizodeposition on the turnover of crop residues. *Biology and Fertility of Soils* 39, 153–164. doi:10.1007/s00374-003-0694-2
- Mayer, J., Buegger, F., Jensen, E.S., Schlöter, M., Heß, J., 2003a. Residual nitrogen contribution from grain legumes to succeeding wheat and rape and related microbial process. *Plant and Soil* 255, 541–554.
- Mayer, J., Buegger, F., Steen, E.S., Schlöter, M., Heß, J., 2003b. Estimating N rhizodeposition of grain legumes using a in situ stem labelling method. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 21–28.
- Mayfield, M.M., Levine, J.M., 2010. Opposing effects of competitive exclusion on the phylogenetic structure of communities. *Ecology Letters* 13, 1085–1093. doi:10.1111/j.1461-0248.2010.01509.x
- Mazoyer, P., Roudart, L., 2006. Histoire des agricultures du monde : Du néolithique à la crise contemporaine. Seuil, Paris, France.
- McCloskey, M.C., Firbank, L.G., Watkinson, A.R., Webb, D.J., 1996. The dynamics of experimental arable weed communities under different management practices. *Journal of Vegetation Science* 7, 799–808.
- McDonald, A.J., Riha, S.J., Ditommaso, A., 2010. Early season height differences as robust predictors of weed growth potential in maize: New avenues for adaptive management? *Weed Research* 50, 110–119. doi:10.1111/j.1365-3180.2009.00759.x
- McGill, B.J., Enquist, B.J., Weiher, E., Westoby, M., 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology and Evolution* 21, 178–185. doi:10.1016/j.tree.2006.02.002

- McKane, R.B., Johnson, L.C., Shaver, G.R., Nadelhoffer, K.J., Rastetter, E.B., Fry, B., Giblin, A.E., Kielland, K., Kwiatkowski, B.L., Laundre, J.A., Murray, G., 2002. Resource-based niches provide a basis for plant species diversity and dominance in arctic tundra. *Nature* 415, 68–71. doi:10.1038/415068a
- McLachlan, S.M., Tollenaar, M., Swanton, C.J., Weise, S.F., 1993. Effect of corn-induced shading on dry-matter accumulation, distribution, and architecture of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*). *Weed Science* 41, 568–573.
- Meena, V.S., Maurya, B.R., Verma, J.P., 2014. Does a rhizospheric microorganism enhance K⁺ availability in agricultural soils? *Microbiological Research* 169, 337–347. doi:10.1016/j.micres.2013.09.003
- Meiss, H., Médiène, S., Waldhardt, R., Caneill, J., Bretagnolle, V., Reboud, X., Munier-Jolain, N., 2010a. Perennial lucerne affects weed community trajectories in grain crop rotations. *Weed Research* 50, 331–340. doi:10.1111/j.1365-3180.2010.00784.x
- Meiss, H., Médiène, S., Waldhardt, R., Caneill, J., Munier-Jolain, N., 2010b. Contrasting weed species composition in perennial alfalfas and six annual crops: Implications for integrated weed management. *Agronomy for Sustainable Development* 30, 657–666. doi:10.1051/agro/2009043
- Meiss, H., Munier-Jolain, N., Henriot, F., Caneill, J., 2008. Effects of biomass, age and functional traits on regrowth of arable weeds after cutting. *Journal of Plant Diseases And Protection* 493–499.
- Melero, S., López-Bellido, R.J., López-Bellido, L., Muñoz-Romero, V., Moreno, F., Murillo, J.M., 2011. Long-term effect of tillage, rotation and nitrogen fertiliser on soil quality in a Mediterranean Vertisol. *Soil and Tillage Research* 114, 97–107. doi:10.1016/j.still.2011.04.007
- Melero, S., López-Garrido, R., Murillo, J.M., Moreno, F., 2009. Conservation tillage: Short- and long-term effects on soil carbon fractions and enzymatic activities under Mediterranean conditions. *Soil and Tillage Research* 104, 292–298. doi:10.1016/j.still.2009.04.001
- Mézière, D., Petit, S., Granger, S., Biju-Duval, L., Colbach, N., 2015. Developing a set of simulation-based indicators to assess harmfulness and contribution to biodiversity of weed communities in cropping systems. *Ecological Indicators* 48, 157–170. doi:10.1016/j.ecolind.2014.07.028
- Millard, P., Singh, B.K., 2010. Does grassland vegetation drive soil microbial diversity? *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 88, 147–158. doi:10.1007/s10705-009-9314-3
- Miller, M.H., McGonigle, T.P., Addy, H.D., 1995. Functional ecology of vesicular arbuscular mycorrhizas as influenced by phosphate fertilization and tillage in an agricultural ecosystem. *Critical Reviews in Biotechnology* 15, 241–255.
- Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, 2008. Plan Ecophyto 2018 de réduction des usages de pesticides 2008-2018. Paris, France, 21p.
- Mishra, S., Di, H.J., Cameron, K.C., Monaghan, R., Carran, A., 2005. Gross nitrogen mineralisation rates in pastoral soils and their relationships with organic nitrogen fractions, microbial biomass and protease activity under glasshouse conditions. *Biology and Fertility of Soils* 42, 45–53. doi:10.1007/s00374-005-0863-6
- Mitchell, R., Webb, J., Harrison, R., 2001. Crop residues can affect N leaching over at least two winters. *European Journal of Agronomy* 15, 17–29. doi:10.1016/S1161-0301(00)00088-5
- Mohammadi, G.R., 2007. Growth parameters enhancing the competitive ability of corn (*Zea mays* L.) against weeds. *Weed Biology and Management* 7, 232–236. doi:10.1111/j.1445-6664.2007.00261.x
- Mohler, C.L., Dykeman, C., Nelson, E.B., Ditommaso, A., 2012. Reduction in weed seedling emergence by pathogens following the incorporation of green crop residue. *Weed Research* 52, 467–477. doi:10.1111/j.1365-3180.2012.00940.x
- Möller, K., Müller, T., 2012. Effects of anaerobic digestion on digestate nutrient availability and crop growth: A review. *Engineering in Life Sciences* 12, 242–257. doi:10.1002/elsc.201100085
- Mommer, L., Visser, E.J.W., van Ruijven, J., de Caluwe, H., Pierik, R., de Kroon, H., 2011. Contrasting root behaviour in two grass species: A test of functionality in dynamic heterogeneous conditions. *Plant Soil* 344, 347–360. doi:10.1007/s11104-011-0752-8

- Mooshammer, M., Wanek, W., Hämmerle, I., Fuchslueger, L., Hofhansl, F., Knoltsch, A., Schneckner, J., Takriti, M., Watzka, M., Wild, B., Keiblinger, K.M., Zechmeister-Boltenstern, S., Richter, A., 2014a. Adjustment of microbial nitrogen use efficiency to carbon:nitrogen imbalances regulates soil nitrogen cycling. *Nature Communications* 5, 3694. doi:10.1038/ncomms4694
- Mooshammer, M., Wanek, W., Zechmeister-Boltenstern, S., Richter, A., 2014b. Stoichiometric imbalances between terrestrial decomposer communities and their resources: Mechanisms and implications of microbial adaptations to their resources. *Frontiers in Microbiology* 5, 22. doi:10.3389/fmicb.2014.00022
- Mougel, C., Offre, P., Ranjard, L., Corberand, T., Gamalero, E., Robin, C., Lemanceau, P., 2006. Dynamic of the genetic structure of bacterial and fungal communities at different developmental stages of bacterial and fungal communities at different developmental stages of *Medicago truncatula* Gaertn. cv. Jemalong line J5. *New Phytologist* 170, 165–175. doi:10.1111/j.1469-8137.2006.01650.x
- Mouginot, C., Kawamura, R., Matulich, K.L., Berlemont, R., Allison, S.D., Amend, A.S., Martiny, A.C., 2014. Elemental stoichiometry of fungi and bacteria strains from grassland leaf litter. *Soil Biology and Biochemistry* 76, 278–285. doi:10.1016/j.soilbio.2014.05.011
- Mouillot, D., Dumay, O., Tomasini, J.A., 2007. Limiting similarity, niche filtering and functional diversity in coastal lagoon fish communities. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 71, 443–456. doi:10.1016/j.ecss.2006.08.022
- Mouillot, D., Stubbs, W., Faure, M., Dumay, O., Tomasini, J.A., Wilson, J.B., Chi, T.D., 2005. Niche overlap estimates based on quantitative functional traits: A new family of non-parametric indices. *Oecologia* 145, 345–353. doi:10.1007/s00442-005-0151-z
- Moukoubi, Y.D., Sie, M., Vodouhe, R., Bonou, W., Toulou, B., Ahanchede, A., 2011. Screening of rice varieties for their weed competitiveness. *African Journal of Agriculture Research* 6, 5446–5456.
- Mrkonjic Fuka, M.M., Engel, M., Gatteringer, A., Bausenwein, U., Sommer, M., Munch, J.C., Schlöter, M., 2008a. Factors influencing variability of proteolytic genes and activities in arable soils. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 1646–1653. doi:10.1016/j.soilbio.2008.01.028
- Mrkonjic Fuka, M.M., Engel, M., Haesler, F., Welzl, G., 2008b. Diversity of proteolytic community encoding for subtilisin in an arable field: Spatial and temporal variability. *Biology and Fertility of Soils* 45, 185–191. doi:10.1007/s00374-008-0319-x
- Mrkonjic Fuka, M.M., Engel, M., Hagn, A., Munch, J.C., Sommer, M., Schlöter, M., 2009. Changes of diversity pattern of proteolytic bacteria over time and space in an agricultural soil. *Microbial Ecology* 57, 391–401. doi:10.1007/s00248-008-9416-5
- Mt. Pleasant, J., Schlather, K.J., 1994. Incidence of weed seed in cow (*Bos* spp.) manure and its importance as a weed source for cropland. *Weed Technology* 8, 304–310.
- Muller, S., Schmidt, A., 1986. Substrate-dependent arylsulfatase activity in the cyanobacterium *Plectonema*-73110. *Zeitschrift für Naturforschung C-A Journal of Biosciences* 41, 820–824.
- Munier-Jolain, N., Carrouée, B., 2003. Quelle place pour le pois dans une agriculture respectueuse de l'environnement ? *Argumentaire agri-environnemental. Cahiers Agricultures* 12, 111–120.
- Munkholm, L.J., Heck, R.J., Deen, B., 2013. Long-term rotation and tillage effects on soil structure and crop yield. *Soil and Tillage Research* 127, 85–91. doi:10.1016/j.still.2012.02.007
- Murooka, Y., Azakami, H., Yamashita, M., 1996. The monoamine regulon including syntheses of arylsulfatase and monoamine oxidase in bacteria. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 60, 935–941. doi:10.1248/cpb.37.3229
- Murooka, Y., Harada, T., 1981. Regulation of derepressed synthesis of arylsulfatase by tyramine oxidase in *Salmonella typhimurium*. *Journal of Bacteriology* 145, 796–802.
- Murphy, S.D., 2001. The role of pollen allelopathy in weed ecology. *Weed Technology* 15, 867–872. doi:10.1614/0890-037X(2001)015[0867:TROPAL]2.0.CO;2
- Murphy, D. V., Cookson, W.R., Braimbridge, M., Marschner, P., Jones, D.L., Stockdale, E.A., Abbott, L.K., 2011. Relationships between soil organic matter and the soil microbial biomass (size, functional diversity, and

- community structure) in crop and pasture systems in a semi-arid environment. *Soil Research* 49, 582–594. doi:10.1071/SR11203
- Murugan, R., Koch, H.-J., Joergensen, R.G., 2014. Long-term influence of different tillage intensities on soil microbial biomass, residues and community structure at different depths. *Biology and Fertility of Soils* 50, 487–498. doi:10.1007/s00374-013-0871-x
- Myers, M.W., Curran, W.S., Vangessel, M.J., Majek, B.A., Mortensen, D.A., Calvin, D.D., Karsten, H.D., Roth, G.W., 2005. Effect of soil disturbance on annual weed emergence in the northeastern United States. *Weed Technology* 19, 274–282. doi:10.1614/WT-03-242R1
- Naeem, S., Wright, J.P., 2003. Disentangling biodiversity effects on ecosystem functioning: Deriving solutions to a seemingly insurmountable problem. *Ecology Letters* 6, 567–579.
- Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M.T., Landi, L., Pietramellara, G., Renella, G., 2003. Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science* 54, 655–670. doi:10.1046/j.1365-2389.2003.00556.x
- Narula, S., Anand, R.C., Dudeja, S.S., Vishal, Pathak, D. V., 2013. Molecular diversity of root and nodule endophytic bacteria from field pea (*Pisum sativum* L.). *Legume Research* 36, 344–350.
- Navarro-Noya, Y.E., Gómez-Acata, S., Montoya-Ciriaco, N., Rojas-Valdez, A., Suárez-Arriaga, M.C., Valenzuela-Encinas, C., Jiménez-Bueno, N., Verhulst, N., Govaerts, B., Dendooven, L., 2013. Relative impacts of tillage, residue management and crop-rotation on soil bacterial communities in a semi-arid agroecosystem. *Soil Biology and Biochemistry* 65, 86–95. doi:10.1016/j.soilbio.2013.05.009
- Navas, M.-L., 2012. Trait-based approaches to unravelling the assembly of weed communities and their impact on agro-ecosystem functioning. *Weed Research* 52, 479–488. doi:10.1111/j.1365-3180.2012.00941.x
- Navas, M.-L., Fayolle, A., 2012. Competition depends more on the functional structure of plant community than on standing biomass. *Community Ecology* 13, 21–29. doi:10.1556/ComEc.13.2012.1.3
- Navas, M.-L., Violle, C., 2009. Plant traits related to competition: How do they shape the functional diversity of communities? *Community Ecology* 10, 131–137. doi:10.1556/ComEc.10.2009.1.15
- Ngosong, C., Raupp, J., Scheu, S., Ruess, L., 2009. Low importance for a fungal based food web in arable soils under mineral and organic fertilization indicated by Collembola grazers. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 2308–2317. doi:10.1016/j.soilbio.2009.08.015
- Nicholls, R.G., Roy, A.B., 1971. Arylsulfatases, in: Boyer, P.D. (Ed.), *The Enzymes*. Academic Press, New York, USA, pp. 21–41.
- Niknahad-Gharmakher, H., Piutti, S., Machet, J.-M., Benizri, E., Recous, S., 2012. Mineralization-immobilization of sulphur in a soil during decomposition of plant residues of varied chemical composition and S content. *Plant and Soil* 1–14.
- Nkoa, R., 2014. Agricultural benefits and environmental risks of soil fertilization with anaerobic digestates: A review. *Agronomy for Sustainable Development* 34, 473–492. doi:10.1007/s13593-013-0196-z
- Norris, R.F., Kogan, M., 2000. Interactions between weeds, arthropod pests, and their natural enemies in managed ecosystems. *Weed Science* 48, 94–158. doi:10.1614/0043-1745(2000)048[0094:IBWAPA]2.0.CO;2
- Novoplansky, A., 2009. Picking battles wisely: Plant behaviour under competition. *Plant, Cell and Environment* 32, 726–741. doi:10.1111/j.1365-3040.2009.01979.x
- O'Donovan, J.T., Destremy, E.A., O'Sullivan, P.A., Dew, D.A., Sharma, A.K., 1985. Influence of the relative-time of emergence of wild oat (*Avena fatua*) on yield loss of barley (*Hordeum vulgare*) and wheat (*Triticum aestivum*). *Weed Science* 33, 498–503.
- Oerke, E.C., 2006. Crop losses to pests. *Journal of Agricultural Science* 144, 31–43. doi:10.1017/S0021859605005708
- Oorts, K., Nicolardot, B., Merckx, R., Richard, G., Boizard, H., 2006. C and N mineralization of undisrupted and disrupted soil from different structural zones of conventional tillage and no-tillage systems in northern France. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 2576–2586. doi:10.1016/j.soilbio.2006.03.013

- Ordoñez, J.C., van Bodegom, P.M., Witte, J.-P.M., Wright, I.J., Reich, P.B., Aerts, R., 2009. A global study of relationships between leaf traits, climate and soil measures of nutrient fertility. *Global Ecology and Biogeography* 18, 137–149. doi:10.1111/j.1466-8238.2008.00441.x
- Ouni, Y., Lakhdar, A., Scelza, R., Scotti, R., Abdelly, C., Barhoumi, Z., Rao, M.A., 2013. Effects of two composts and two grasses on microbial biomass and biological activity in a salt-affected soil. *Ecological Engineering* 60, 363–396. doi:10.1016/j.ecoleng.2013.09.002
- Paarlberg, D., Paarlberg, P., 2000. *The Agricultural Revolution of the 20th Century*. Iowa State University Press, Ames, USA. doi:10.1002/9780470290170
- Page, E.R., Willenborg, C.J., 2013. Dynamics and management of crop-weed interference. *Prairies Soils and Crops Journal* 6, 24–32.
- Paillard, S., Treyer, S., Dorin, B., 2010. *Agrimonde : Scénarios et défis pour nourrir le monde en 2050*. Quae, Versailles, France.
- Panettieri, M., Knicker, H., Murillo, J.M., Madejón, E., Hatcher, P.G., 2014. Soil organic matter degradation in an agricultural chronosequence under different tillage regimes evaluated by organic matter pools, enzymatic activities and CPMAS ¹³C NMR. *Soil Biology and Biochemistry* 78, 170–181. doi:10.1016/j.soilbio.2014.07.021
- Paolini, R., Principi, M., Froud-Williams, R.J., Del Puglia, S., Biancardi, E., 1999. Competition between sugarbeet and *Sinapis arvensis* and *Chenopodium album*, as affected by timing of nitrogen fertilization. *Weed Research* 39, 425–440. doi:10.1046/j.1365-3180.1999.00156.x
- Papy, F., Goldringer, I., 2011. Cultiver la biodiversité. *Courrier de L'environnement de l'INRA* 60, 55–62.
- Pardey, P.G., Pingali, P.L., 2010. Reassessing International Agricultural Research for Food and Agriculture.
- Pascual, N., Cécillon, L., Mathieu, O., Hénault, C., Sarr, A., Lévêque, J., Farcy, P., Ranjard, L., Maron, P.-A., 2010. In Situ Dynamics of Microbial Communities during Decomposition of Wheat, Rape, and Alfalfa Residues. *Microbial Ecology* 60, 816–828. doi:10.1007/s00248-010-9705-7
- Pascual, N., Ranjard, L., Kaisermann, A., Bachar, D., Christen, R., Terrat, S., Mathieu, O., Lévêque, J., Mougel, C., Hénault, C., Lemanceau, P., Péan, M., Boiry, S., Fontaine, S., Maron, P.A., 2013. Stimulation of different functional groups of bacteria by various plant residues as a driver of soil priming effect. *Ecosystems* 16, 810–822. doi:10.1007/s10021-013-9650-7
- Pastorelli, R., Vignozzi, N., Landi, S., Piccolo, R., Orsini, R., Seddaiu, G., Roggero, P.P., Pagliai, M., 2013. Consequences on macroporosity and bacterial diversity of adopting a no-tillage farming system in a clayish soil of Central Italy. *Soil Biology and Biochemistry* 66, 78–93. doi:10.1016/j.soilbio.2013.06.015
- Paterson, E., 2003. Importance of rhizodeposition in the coupling of plant and microbial productivity. *European Journal of Soil Science* 54, 741–750. doi:10.1046/j.1365-2389.2003.00557.x
- Paz-Ferreiro, J., Fu, S., Méndez, A., Gascó, G., 2014. Interactive effects of biochar and the earthworm *Pontoscolex corethrurus* on plant productivity and soil enzyme activities. *Journal of Soils and Sediments* 14, 483–494. doi:10.1007/s11368-013-0806-z
- Peoples, M.B., Brockwell, J., Herridge, D.F., Rochester, I.J., Alves, B.J.R., Urquiaga, S., Boddey, R.M., Dakora, F.D., Bhattarai, S., Maskey, S.L., Sampet, C., Rerkasem, B., Khan, D.F., Hauggaard-Nielsen, H., Jensen, E.S., 2009. The contributions of nitrogen-fixing crop legumes to the productivity of agricultural systems. *Symbiosis* 48, 1–17.
- Perronne, R., Le Corre, V., Bretagnolle, V., Gaba, S., 2015. Stochastic processes and crop types shape weed community assembly in arable fields. *Journal of Vegetation Science* 26, 348–359. doi:10.1111/jvs.12238
- Perucci, P., Bonciarelli, U., Santilocchi, R., Bianchi, a. a., 1997. Effect of rotation, nitrogen fertilization and management of crop residues on some chemical, microbiological and biochemical properties of soil. *Biology and Fertility of Soils* 24, 311–316. doi:10.1007/s003740050249
- Perucci, P., Scarponi, L., 1984. Arylsulphatase activity in soils amended with crop residues: Kinetic and thermodynamic parameters. *Soil Biology and Biochemistry* 16, 605–608. doi:10.1016/0038-0717(84)90080-4

- Perucci, P., Scarponi, L., Businelli, M., 1984. Enzyme activities in a clay-loam soil amended with various crop residues. *Plant and Soil* 1, 345–351.
- Petit, S., Fried, G., 2012. Patterns of weed co-occurrence at the field and landscape level. *Journal of Vegetation Science* 23, 1137–1147. doi:10.1111/j.1654-1103.2012.01421.x
- Philippot, L., Spor, A., Hénault, C., Bru, D., Bizouard, F., Jones, C.M., Sarr, A., Maron, P.-A., 2013. Loss in microbial diversity affects nitrogen cycling in soil. *The ISME Journal* 7, 1609–19. doi:10.1038/ismej.2013.34
- Pinto, O., Nahas, E., 2002. Atividade e população microbiana envolvida nas transformações do enxofre em solos com diferentes vegetações. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37, 1751–1756.
- Piotrowska-Długosz, A., Wilczewski, E., 2014. Assessment of soil nitrogen and related enzymes as influenced by the incorporation time of field pea cultivated as a catch crop in Alfisol. *Environmental Monitoring and Assessment* 186, 8425–8441. doi:10.1007/s10661-014-4014-0
- Piutti, S., Slezacek-Deschaumes, S., Niknahad-Gharmakher, H., Vong, P.-C., Recous, S., Benizri, E., 2015. Relationships between the density and activity of microbial communities possessing arylsulfatase activity and soil sulfate dynamics during the decomposition of plant residues in soil. *European Journal of Soil Biology* 70, 88–96. doi:10.1016/j.ejsobi.2015.07.007
- Poehling, H.M., 1988. Control of cereal aphids in winter wheat with reduced dose rates of different insecticides with special respect to side effects to beneficial arthropods., in: Cavalloro, R., Sunderland, K.D. (Eds.), *Integrated Crop Protection in Cereals*. A.A. Balkema, Rotterdam, Pays-Bas, pp. 167–170.
- Poggio, S.L., 2005. Structure of weed communities occurring in monoculture and intercropping of field pea and barley. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 109, 48–58. doi:10.1016/j.agee.2005.02.019
- Pollnac, F.W., Maxwell, B.D., Menalled, F.D., 2009. Weed community characteristics and crop performance: A neighbourhood approach. *Weed Research* 49, 242–250. doi:10.1111/j.1365-3180.2009.00688.x
- Popovici, M., Bucurean, E., 2009. The influence of crop rotation over the yield and the quality of the seeds for the dropia autumn wheat cultivar. *Research Journal of Agricultural Science* 41, 99–102.
- Portillo, M.C., Leff, J.W., Lauber, C.L., Fierer, N., 2013. Cell size distributions of soil bacterial and archaeal taxa. *Applied and Environmental Microbiology* 79, 7610–7617. doi:10.1128/AEM.02710-13
- Potier, D., 2014. Pesticides et agro-écologie. Les Champs du possible. Rapport au Premier Ministre.
- Potter, C.S., Matson, P.A., Vitousek, P.M., Davidson, E.A., 1996. Process modeling of controls on nitrogen trace gas emissions from soils worldwide. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* 101, 1361–1377. doi:10.1029/95JD02028
- Puglisi, E., Del Re, A.A.M., Rao, M.A., Gianfreda, L., 2006. Development and validation of numerical indexes integrating enzyme activities of soils. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 1673–1681. doi:10.1016/j.soilbio.2005.11.021
- Putnam, A.R., DeFrank, J., 1983. Use of phytotoxic plant residues for selective weed control. *Crop Protection* 2, 173–181.
- Pyšek, P., Jarošík, V., Chytrý, M., Kropáč, Z., Tichý, L., Wild, J., 2005a. Alien plants in temperate weed communities: Prehistoric and recent invaders occupy different habitats. *Ecology* 86, 772–785.
- Pyšek, P., Jarošík, V., Kropáč, Z., Chytrý, M., Wild, J., Tichý, L., 2005b. Effects of abiotic factors on species richness and cover in Central European weed communities. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 109, 1–8. doi:10.1016/j.agee.2005.02.018
- Pyšek, P., Lepš, J., 1991. Response of a weed community to nitrogen fertilization a multivariate analysis. *Journal of Vegetation Science* 2, 237–244. doi:10.2307/3235956
- Ramirez-Villanueva, D. a., Bello-López, J.M., Navarro-Noya, Y.E., Luna-Guido, M., Verhulst, N., Govaerts, B., Dendooven, L., 2015. Bacterial community structure in maize residue amended soil with contrasting management practices. *Applied Soil Ecology* 90, 49–59. doi:10.1016/j.apsoil.2015.01.010

- Ranjan, K., Paula, F.S., Mueller, R.C., Jesus, E.D.C., Cenciani, K., Bohannan, B.J.M., Nüsslein, K., Rodrigues, J.L.M., 2015. Forest-to-pasture conversion increases the diversity of the phylum Verrucomicrobia in Amazon rainforest soils. *Frontiers in Microbiology* 6, 1–9. doi:10.3389/fmicb.2015.00779
- Rao, M.B., Tanksale, A.M., Ghatge, M.S., Deshpande, V. V, 1998. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 62, 597–635.
- Rasmussen, K.J., 1999. Impact of ploughless soil tillage on yield and soil quality: A Scandinavian review. *Soil and Tillage Research* 53, 3–14. doi:10.1016/S0167-1987(99)00072-0
- Reddy, K.S., Singh, M., Swarup, A., Rao, A.S., Singh, K.N., 2002. Sulfur mineralization in two soils amended with organic manures, crop residues, and green manures. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 165, 167–171. doi:10.1002/1522-2624(200204)165:2<167::AID-JPLN167>3.0.CO;2-1
- Redfield, R.J., 2002. Is quorum sensing a side effect of diffusion sensing? *Trends in Microbiology* 10, 365–370. doi:10.1016/S0966-842X(02)02400-9
- Reich, P.B., Wright, I.J., Cavender-Bares, J., Craine, J.M., Oleksyn, J., Westoby, M., Walters, M.B., 2003. The evolution of plant functional variation: Traits, spectra, and strategies. *International Journal of Plant Sciences* 164, S143–S164. doi:10.1086/374368
- Reiss, J., Bridle, J.R., Montoya, M., Woodward, G., 2009. Emerging horizons in biodiversity and ecosystem functioning research. *Trends in Ecology and Evolution* 24, 505–514. doi:10.1016/j.tree.2009.03.018
- Reynolds, H.L., Packer, A., Bever, J.D., Clay, K., 2003. Grassroots ecology: Plant-microbe-soil interactions as drivers of plant community structure and dynamics. *Ecology* 84, 2281–2291. doi:10.1890/02-0298
- Riedell, W.E., Pikul Jr., J.L., Jaradat, A.A., Schumacher, T.E., 2009. Crop rotation and nitrogen input effects on soil fertility, maize mineral nutrition, yield, and seed composition. *Agronomy Journal* 101, 870–879. doi:10.2134/agronj2008.0186x
- Rochette, P., 2008. No-till only increases N₂O emissions in poorly-aerated soils. *Soil and Tillage Research* 101, 97–100. doi:10.1016/j.still.2008.07.011
- Rolland, S.G., Bruel, C.A., 2008. Sulphur and nitrogen regulation of the protease-encoding ACP1 gene in the fungus *Botrytis cinerea*: Correlation with a phospholipase D activity. *Microbiology* 154, 1464–1473. doi:10.1099/mic.0.2007/012005-0
- Rønn, R., Vestergård, M., Ekelund, F., 2012. Interactions between bacteria, protozoa and nematodes in soil. *Acta Protozoologica* 51, 223–235. doi:10.4467/16890027AP.12.018.0764
- Rosenfeld, J.S., 2002. Functional redundancy in ecology and conservation. *Oikos* 98, 156–162.
- Roumet, C., Lafont, F., Sari, M., Warembourg, F., Garnier, E., 2008. Root traits and taxonomic affiliation of nine herbaceous species grown in glasshouse conditions. *Plant and Soil* 312, 69–83. doi:10.1007/s11104-008-9635-z
- Roumet, C., Urcelay, C., Díaz, S., 2006. Suites of root traits differ between annual and perennial species growing in the field. *New Phytologist* 170, 357–368. doi:10.1111/j.1469-8137.2006.01667.x
- Rousk, J., Bååth, E., Brookes, P.C., Lauber, C.L., Lozupone, C., Caporaso, J.G., Knight, R., Fierer, N., 2010. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *The ISME Journal* 4, 1340–1351. doi:10.1038/ismej.2010.58
- Rusu, T., Gu, P., Bogdan, I., 2002. Researches regarding the conservation of soil fertility function of soil tillage systems, *Bulletin of the University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Cluj-Napoca*, Vol 57, pp. 101–106.
- Ryan, M.R., Smith, R.G., Mirsky, S.B., Mortensen, D.A., Seidel, R., 2010. management filters and species traits: Weed community assembly in long-term organic and conventional systems. *Weed Science* 58, 265–277. doi:10.1614/WS-D-09-00054.1
- Saggar, S., Bettany, J.R., Stewart, J.W.B., 1981. Measurement of microbial sulfur in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 13, 493–498. doi:10.1016/0038-0717(81)90040-7

- Sakurai, M., Suzuki, K., Onodera, M., 2007. Analysis of bacterial communities in soil by PCR – DGGE targeting protease genes. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2777–2784. doi:10.1016/j.soilbio.2007.05.026
- Salles, J.F., Poly, F., Schmid, B., Le Roux, X., 2009. Community niche predicts the functioning of denitrifying bacterial assemblages. *Ecology* 90, 3324–3332.
- Salon, C., Munier-Jolain, N.G., Duc, G., Voisin, A., Grandgirard, D., Larmure, A., Emery, R.J.N., Ney, B., 2001. Grain legume seed filling in relation to nitrogen acquisition: A review and prospects with particular reference to pea. *Agronomie* 21, 539–552.
- Salonen, J., Hyvönen, T., Jalli, H., 2005. Weeds and weed management of dry peas in Finland. *Agricultural and Food Science* 14, 189–201.
- Sances, F. V., Ingham, E.R., 1997. Conventional and organic alternatives to methyl bromide on california strawberries. *Compost Science and Utilization* 5, 23–37.
- Sanchez-Monge, R., Lopez-Torrejón, G., Pascual, C.Y., Varela, J., Martin-Esteban, M., Salcedo, G., 2004. Vicilin and convicilin are potential major allergens from pea. *Clinical and Experimental Allergy* 34, 1747–1753. doi:10.1111/j.1365-2222.2004.02085.x
- Santín-Montanyá, M.I., Martín-Lammerding, D., Walter, I., Zambrana, E., Tenorio, J.L., 2013. Effects of tillage, crop systems and fertilization on weed abundance and diversity in 4-year dry land winter wheat. *European Journal of Agronomy* 48, 43–49. doi:10.1016/j.eja.2013.02.006
- Sardans, J., Peñuelas, J., 2005. Drought decreases soil enzyme activity in a Mediterranean *Quercus ilex* L. forest. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 455–461. doi:10.1016/j.soilbio.2004.08.004
- Šarūnaitė, L., Deveikytė, I., Arlauskienė, A., Kadžiulienė, Ž., Maiksetienė, S., 2013. Pea and spring cereal intercropping systems: Advantages and suppression of broad-leaved weeds. *Polish Journal of Environmental Studies* 22, 541–551.
- Saviozzi, A., Cardelli, R., Cipolli, S., Levi-Minzi, R., Riffaldi, R., 2006. Arylsulphatase activity during the S mineralization in soils amended with cattle manure and green waste compost. *Agrochimica* 50, 231–237.
- Schaller, N., 2013. L'agroécologie : Des définitions variées, des principes communs. *Les Publications du Service de la Statistique et de la Prospective - Centre d'études et de Prospective* 59, 1–4.
- Schaller, N., 2012. La diversification des assolements en France : Intérêts, freins et enjeux. *Les Publications du Service de la Statistique et de la Prospective - Centre d'études et de Prospective* 51, 1–4.
- Scherer, H.W., 2001. Sulphur in crop production — invited paper. *European Journal of Agronomy* 14, 81–111.
- Scherer, H.W., Pacyna, S., Manthey, N., Schulz, M., 2006. Sulphur supply to peas (*Pisum sativum* L.) influences symbiotic N₂ fixation. *Plant, Soil and Environment* 52, 72–77.
- Schimel, J.P., Weintraub, M.N., 2003. The implications of exoenzyme activity on microbial carbon and nitrogen limitation in soil: A theoretical model. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 549–563. doi:10.1016/S0038-0717(03)00015-4
- Schulten, R., Schnitzer, M., 1998. The chemistry of soil organic nitrogen: A review. *Biology and Fertility of Soils* 26, 1–15.
- Seegmuller, S., Rennenberg, H., 2002. Transport of organic sulfur and nitrogen in the roots of young mycorrhizal pedunculate oak trees (*Quercus robur* L.). *Plant and Soil* 242, 291–297.
- Seibert, A.C., Pearce, R.B., 1993. Growth analysis of weed and crop species with reference to seed weight. *Weed Science* 41, 52–56.
- Seibutis, V., Deveikyte, I., 2006. The influence of short crop rotations on weed community composition. *Agronomy Research* 4, 353–357.
- Serna-Chavez, H.M., Fierer, N., Van Bodegom, P.M., 2013. Global drivers and patterns of microbial abundance in soil. *Global Ecology and Biogeography* 22, 1162–1172. doi:10.1111/geb.12070
- Sharma, S., Aneja, M.K., Mayer, J., Munch, J.C., Schlöter, M., 2005. Characterization of bacterial community structure in rhizosphere soil of grain legumes. *Microbial Ecology* 49, 407–415. doi:10.1007/s00248-004-0041-7

- Shrestha, A., Knezevic, S.Z., Roy, R.C., Swanton, C.J., 2002. Effect of tillage, cover crop and crop rotation on the composition of weed flora in a sandy soil. *Weed Research* 42, 76–87.
- Silvertown, J., 2004. Plant coexistence and the niche. *Trends in Ecology and Evolution* 19, 605–611. doi:10.1016/j.tree.2004.09.003
- Sims, G.K., Wander, M.M., 2002. Proteolytic activity under nitrogen or sulfur limitation. *Applied Soil Ecology* 19, 217–221.
- Singh, R.K., Ram, S., 2012. Competitive ability of wheat cultivars against complex weed flora in zero-till planting. *Pakistan Journal of Weed Science Research* 18, 629–635.
- Singh, V., Singh, H., 2012. Leaf construction cost and related ecophysiological parameters of rice crop and its important weeds. *Rice Science* 19, 233–240. doi:10.1016/S1672-6308(12)60045-6
- Sinsabaugh, R.L., Lauber, L., Weintraub, M.N., Ahmed, B., Allison, S.D., Crenshaw, C., Contosta, A.R., Cusack, D., Frey, S., Gallo, M.E., Gartner, T.B., Sarah E Hobbie, Holland, K., Keeler, B.L., Powers, J.S., Stursova, M., Takacs-Vesbach, C., Waldrop, M.P., Wallenstein, M.D., Zak, D.R., Zeglin, L.H., 2008. Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. *Ecology Letters* 11, 1252–1264. doi:10.1111/j.1461-0248.2008.01245.x
- Sinsabaugh, R.L., Moorhead, D.L., 1994. Resource allocation to extracellular enzyme production: A model for nitrogen and phosphorus control of litter. *Soil Biology and Biochemistry* 26, 1305–1311.
- Sinsabaugh, R.S., 1994. Enzymic analysis of microbial pattern and process. *Biology and Fertility of Soils* 17, 69–74. doi:10.1007/BF00418675
- Siwik-Ziomek, A., Koper, J., 2010. Changes in the content of sulphate sulphur and arylsulphatase activity in soil under potato caused by fertilization. *Journal of Elementology* 15, 171–176.
- Siwik-Ziomek, A., Lemanowicz, J., Koper, J., 2013. Arylsulphatase activity and the content of total sulphur and its forms under the influence of fertilisation with nitrogen and other macroelements. *Journal of Elementology* 48, 437–448. doi:10.5601/jelem.2013.18.3.08
- Slezacek-Deschaumes, S., Piutti, S., Vong, P., Benizri, E., 2012. Dynamics of cultivable arylsulfatase-producing bacterial and fungal communities along the phenology of field-grown rape. *European Journal of Soil Biology* 48, 66–72. doi:10.1016/j.ejsobi.2011.07.014
- Smith, R.G., 2006. Timing of tillage is an important filter on the assembly of weed communities. *Weed Science* 54, 705–712. doi:10.1614/WS-05-177R1.1
- Smith, R.G., Gross, K.L., 2007. Assembly of weed communities along a crop diversity gradient. *Journal of Applied Ecology* 44, 1046–1056. doi:10.1111/j.1365-2664.2007.01335.x
- Smith, R.G., Mortensen, D.A., Ryan, M.R., 2009. A new hypothesis for the functional role of diversity in mediating resource pools and weed – crop competition in agroecosystems. *Weed Research* 50, 37–48. doi:10.1111/j.1365-3180.2009.00745.x
- Smith, V., Bohan, D.A., Clark, S.J., Houghton, A.J., Bell, J.R., Heard, M.S., 2008. Weed and invertebrate community compositions in arable farmland. *Arthropod-Plant Interactions* 2, 21–30. doi:10.1007/s11829-007-9027-y
- Solomon, D., Lehmann, J., de Zarruk, K.K., Dathe, J., Kinyangi, J., Liang, B., Machado, S., 2011. Speciation and long- and short-term molecular-level dynamics of soil organic sulfur studied by X-ray absorption near-edge structure spectroscopy. *Journal of Environment Quality* 40, 704. doi:10.2134/jeq2010.0061
- Soon, Y.K., Arshad, M.A., 2002. Comparison of the decomposition and N and P mineralization of canola, pea and wheat residues. *Biology and Fertility of Soils* 36, 10–17. doi:10.1007/s00374-002-0518-9
- Soon, Y.K., Haq, A., Arshad, M.A., 2007. sensitivity of nitrogen mineralization indicators to crop and soil management. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 38, 2029–2043. doi:10.1080/00103620701548688
- Sourdillat, J.-M., 1950. *Géographie agricole de la France*. Presses Universitaires de France, Paris, France.
- Stevanato, P., Trebbi, D., Bertaggia, M., Colombo, M., Broccanello, C., Concheri, G., Saccomani, M., 2011. Root traits and competitiveness against weeds in sugar beet. *International Sugar Journal* 113, 497–501.

- Stevenson, F.C., Legere, A., Simard, R.R., Angers, D.A., Pageau, D., Lafond, J., 1998. Manure, tillage, and crop rotation: Effects on residual weed interference in spring barley cropping systems. *Agronomy Journal* 90, 496–504.
- Stevenson, F.C., van Kessel, C., 1996. A landscape-scale assessment of the nitrogen and non-nitrogen benefits of pea in a crop rotation. *Soil Science Society of America Journal* 60, 1797–1805.
- Stevenson, F.J., Cole, M.A., 1999. *Cycles of soil: Carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients*. Wiley J. and Sons, New York, USA.
- Stoller, E.W., Myers, R.A., 1989. Response of soybeans (*Glycine max*) and four broadleaf weeds to reduced irradiance. *Weed Science* 37, 570–574.
- Storkey, J., 2006. A functional group approach to the management of UK arable weeds to support biological diversity. *Weed Research* 46, 513–522. doi:10.1111/j.1365-3180.2006.00528.x
- Storkey, J., 2005. Modelling assimilation rates of 14 temperate arable weed species as a function of the environment and leaf traits. *Weed Research* 45, 361–370. doi:10.1111/j.1365-3180.2005.00466.x
- Storkey, J., 2004. Modelling seedling growth rates of 18 temperate arable weed species as a function of the environment and plant traits. *Annals of Botany* 93, 681–689. doi:10.1093/aob/mch095
- Storkey, J., Meyer, S., Still, K.S., Leuschner, C., 2012. The impact of agricultural intensification and land-use change on the European arable flora. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279, 1421–1429. doi:10.1098/rspb.2011.1686
- Storkey, J., Moss, S.R., Cussans, J.W., 2010. Using Assembly Theory to Explain Changes in a Weed Flora in Response to Agricultural Intensification. *Weed Science* 58, 39–46. doi:10.1614/WS-09-096.1
- Strickland, M.S., Rousk, J., 2010. Considering fungal:bacterial dominance in soils - Methods, controls, and ecosystem implications. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 1385–1395. doi:10.1016/j.soilbio.2010.05.007
- Stursova, M., Crenshaw, C.L., Sinsabaugh, R.L., 2006. Microbial responses to long-term N deposition in a semiarid grassland. *Microbial Ecology* 51, 90–98. doi:10.1007/s00248-005-5156-y
- Sultan, S.E., Wilczek, A.M., Hann, S.D., Brosi, B.J., 1998. Contrasting ecological breadth of co-occurring annual *Polygonum* species. *Journal of Ecology* 86, 363–383.
- Swinnen, J., van Veen, J.A., Merckx, R., 1995. Carbon fluxes in the rhizosphere of winter wheat and spring barley with conventional vs integrated farming. *Soil Biology and Biochemistry* 27, 811–820. doi:10.1016/0038-0717(94)00230-X
- Tabaglio, V., Gavazzi, C., Menta, C., 2009. Physico-chemical indicators and microarthropod communities as influenced by no-till, conventional tillage and nitrogen fertilisation after four years of continuous maize. *Soil and Tillage Research* 105, 135–142. doi:10.1016/j.still.2009.06.006
- Tabatabai, M.A., 1984. Importance of Sulphur in crop production. *Biogeochemistry* 1, 45–62.
- Tabatabai, M.A., Bremner, J.M., 1970. Arylsulfatase activity of soils. *Soil Science Society of America Journal* 34, 225–229.
- Tang, L., Cheng, C., Wan, K., Li, R., Wang, D., Tao, Y., Pan, J., Xie, J., Chen, F., 2014. Impact of fertilizing pattern on the biodiversity of a weed community and wheat growth. *PLoS ONE* 9, e84370. doi:10.1371/journal.pone.0084370
- Tarentino, A.L., Quinones, G., Grimwood, B.G., Hauer, C.R., Plummer, T.H., 1995. Molecular cloning and sequence analysis of flavastacin: An o-glycosylated prokaryotic zinc metalloendopeptidase. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 319, 281–285.
- Tariq, M., Hameed, S., Yasmeen, T., Zahid, M., Zafar, M., 2014. Molecular characterization and identification of plant growth promoting endophytic bacteria isolated from the root nodules of pea (*Pisum sativum* L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 30, 719–725. doi:10.1007/s11274-013-1488-9
- Tebrügge, F., Düring, R.-A., 1999. Reducing tillage intensity — a review of results from a long-term study in Germany. *Soil and Tillage Research* 53, 15–28. doi:10.1016/S0167-1987(99)00073-2

- Tedersoo, L., Bahram, M., Pölme, S., Kõljalg, U., Yorou, N.S., Wijesundera, R., Ruiz, L.V., Vasco-Palacios, A.M., Thu, P.Q., Suija, A., Smith, M.E., Sharp, C., Saluveer, E., Saitta, A., Rosas, M., Riit, T., Ratkowsky, D., Pritsch, K., Põldmaa, K., Piepenbring, M., Phosri, C., Peterson, M., Parts, K., Pärtel, K., Otsing, E., Nouhra, E., Njouonkou, A.L., Nilsson, R.H., Morgado, L.N., Mayor, J., May, T.W., Majuakim, L., Lodge, D.J., Lee, S.S., Larsson, K.-H., Kohout, P., Hosaka, K., Hiiesalu, I., Henkel, T.W., Harend, H., Guo, L., Greslebin, A., Grelet, G., Geml, J., Gates, G., Dunstan, W., Dunk, C., Drenkhan, R., Dearnaley, J., Kesel, A. De, Dang, T., Chen, X., Buegger, F., Brearley, F.Q., Bonito, G., Anslan, S., Abell, S., Abarenkov, K., 2014. Global diversity and geography of soil fungi. *Science* 346, 1–10. doi:10.1126/science.aaa1185
- Tejada, M., Hernandez, M.T., Garcia, C., 2006. Application of two organic amendments on soil restoration: Effects on the soil biological properties. *Journal of Environmental Quality* 35, 1010–1017. doi:10.2134/jeq2005.0460
- Thevenot, M., Dignac, M.F., Rumpel, C., 2010. Fate of lignins in soils: A review. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 1200–1211. doi:10.1016/j.soilbio.2010.03.017
- Thompson, R., Starzomski, B.M., 2007. What does biodiversity actually do? A review for managers and policy makers. *Biodiversity and Conservation* 16, 1359–1378. doi:10.1007/s10531-005-6232-9
- Tian, Y., Cao, F., Wang, G., 2013. Soil microbiological properties and enzyme activity in Ginkgo – tea agroforestry compared with monoculture. *Agroforestry Systems* 87, 1201–1210. doi:10.1007/s10457-013-9630-0
- Tilman, D., 2007. Resource competition and plant traits: A response to Craine et al. 2005. *Journal of Ecology* 95, 231–234. doi:10.1111/j.1365-2745.2007.01201.x
- Tilman, D., 2001. Functional Diversity, in: Levin, S.A. (Ed.), *Encyclopaedia of Biodiversity*. Academic Press, San Diego, USA, pp. 109–120.
- Timmons, F.L., 2005. A History of Weed Control in the United States and Canada. *Weed Science* 53, 748–761. doi:10.1614/0043-1745(2005)053[0748:AHOWCI]2.0.CO;2
- Tirel, J.-C., 1991. L’extensification : Chance ou défi pour les exploitations agricoles? *INRA Productions Animales* 4, 5–12.
- Torner, C., Sanchez del Arco, M.J., Satorre, E., Fernandez-Quintanilla, C., 2000. A comparison of the growth patterns and the competitive ability of four annual weeds. *Agronomie* 20, 147–156. doi:10.1051/agro:2000115
- Trasar-Cepeda, C., Gil-Sotres, F., Leirós, M.C., 2007. Thermodynamic parameters of enzymes in grassland soils from Galicia, NW Spain. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 311–319. doi:10.1016/j.soilbio.2006.08.002
- Tuesca, D., Puricelli, E., 2007. Effect of tillage systems and herbicide treatments on weed abundance and diversity in a glyphosate resistant crop rotation. *Crop Protection* 26, 1765–1770. doi:10.1016/j.cropro.2007.03.008
- Tyr, S., Veres, T., Lacko-Bartosova, M., 2009. The most problematic weeds in the pea for grain (*Pisum sativum* L.) in ecological farming. *Research Journal of Agricultural Science* 41, 341–344.
- Uludag, A., Bohren, C., Bulcke, R., Demici, M., Dobrzanski, A., Froud-Williams, R.J., Hoek, H., Rocha, F., Stagnari, F., Tei, F., Verschwele, A., Zaragoza, C., 2003. A review of weed control management in green peas. *Vegetable Crops Research Bulletin* 59, 5–16.
- UNIP, 2015. Note aux Opérateurs 395.
- Uroz, S., Calvaruso, C., Turpault, M.P., Sarniguet, A., de Boer, W., Leveau, J.H.J., Frey-Klett, P., 2009. Efficient mineral weathering is a distinctive functional trait of the bacterial genus *Collimonas*. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 2178–2186. doi:10.1016/j.soilbio.2009.07.031
- Useche, A., Shipley, B., 2010. Plasticity in relative growth rate after a reduction in nitrogen availability is related to root morphological and physiological responses. *Annals of Botany* 106, 617–625. doi:10.1093/aob/mcq144

- van Capelle, C., Schrader, S., Brunotte, J., 2012. Tillage-induced changes in the functional diversity of soil biota. A review with a focus on German data. *European Journal of Soil Biology* 50, 165–181. doi:10.1016/j.ejsobi.2012.02.005
- van den Bossche, A., De Bolle, S., De Neve, S., Hofman, G., 2009. Effect of tillage intensity on N mineralization of different crop residues in a temperate climate. *Soil and Tillage Research* 103, 316–324. doi:10.1016/j.still.2008.10.019
- van der Werf, A., Vannuenen, M., Visser, A.J., Lambers, H., 1993. Contribution of physiological and morphological plant traits to a species competitive ability at high and low nitrogen supply - a hypothesis for inherently fast-growing and slow-growing monocotyledonous species. *Oecologia* 94, 434–440.
- Vandermeer, J.H., 1972. Niche theory. *Annual Review of Ecology and Systematics* 3, 107–132.
- Vanegas, J., Landazabal, G., Melgarejo, L.M., Beltran, M., Uribe-Vélez, D., 2013. Structural and functional characterization of the microbial communities associated with the upland and irrigated rice rhizospheres in a neotropical Colombian savannah. *European Journal of Soil Biology* 55, 1–8. doi:10.1016/j.ejsobi.2012.10.008
- Velthof, G.L., Bannink, A., Oenema, O., van der Meer, H.G., Spoelstra, S.F., 2000. Relationships between animal nutrition and manure quality. A literature review on C, N, P and S compounds. *Alterra, Green World Research, Wageningen, Pays-Bas*, 42p.
- Viebahn, M., Veenman, C., Wernars, K., Van Loon, L.C., Smit, E., Bakker, P. a H.M., 2005. Assessment of differences in ascomycete communities in the rhizosphere of field-grown wheat and potato. *FEMS Microbiology Ecology* 53, 245–253. doi:10.1016/j.femsec.2004.12.014
- Violle, C., Garnier, E., Lecoœur, J., Roumet, C., Pothier, C., Blanchard, A., Navas, M.L., 2009. Competition, traits and resource depletion in plant communities. *Oecologia* 160, 747–755. doi:10.1007/s00442-009-1333-x
- Violle, C., Navas, M., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., Garnier, E., 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos* 116, 882–892. doi:10.1111/j.2007.0030-1299.15559.x
- Virto, I., Barré, P., Burlot, A., Chenu, C., 2012. Carbon input differences as the main factor explaining the variability in soil organic C storage in no-tilled compared to inversion tilled agrosystems. *Biogeochemistry* 108, 17–26. doi:10.1007/s10533-011-9600-4
- Voisin, A.S., Guéguen, J., Huyghe, C., Jeuffroy, M.H., Magrini, M.B., Meynard, J.M., Mougé, C., Pellerin, S., Pelzer, E., 2013. Legumes for feed, food, biomaterials and bioenergy in Europe: A review. *Agronomy for Sustainable Development* 34, 361–380. doi:10.1007/s13593-013-0189-y
- Von Felten, S., Hector, A., Buchmann, N., Niklaus, P.A., Schmid, B., Scherer-Lorenzen, M., 2009. Belowground nitrogen partitioning in experimental grassland plant communities of varying species richness. *Ecology* 90, 1389–1399. doi:10.1890/08-0802.1
- Volis, S., Bohrer, G., 2013. Joint evolution of seed traits along an aridity gradient: Seed size and dormancy are not two substitutable evolutionary traits in temporally heterogeneous environment. *New Phytologist* 197, 655–667. doi:10.1111/nph.12024
- Vong, P., Dedourge, O., Lasserre-Joulin, F., Guckert, A., 2003. Immobilized-S, microbial biomass-S and soil arylsulfatase activity in the rhizosphere soil of rape and barley as affected by labile substrate C and N additions. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 1651–1661. doi:10.1016/j.soilbio.2003.08.012
- Vong, P., Lasserre-Joulin, F., Guckert, A., 2002. Mobilization of labelled organic sulfur in rhizosphere of rape and barley and in non-rhizosphere soil. *Journal of Plant Nutrition* 25, 2191–2204. doi:10.1081/PLN-120014070
- Vong, P., Piutti, S., Slezack-Deschaumes, S., Benizri, E., Guckert, A., 2008. Sulphur immobilization and arylsulphatase activity in two calcareous arable and fallow soils as affected by glucose additions. *Geoderma* 148, 79–84. doi:10.1016/j.geoderma.2008.09.008
- Vong, P., Piutti, S., Slezack-Deschaumes, S., Benizri, E., Robin, C., Guckert, A., 2007. Water-soluble carbon in roots of rape and barley: Impacts on labile soil organic carbon, arylsulphatase activity and sulphur mineralization. *Plant and Soil* 294, 19–29. doi:10.1007/s11104-007-9201-0

- Vong, P.C., Kabibou, I., Jacquin, F., 1990. Etudes des corrélations entre biomasse microbienne et différentes fractions d'azote organique présentes dans deux sols lorrains. *Soil Biology and Biochemistry* 22, 385–392. doi:10.1016/0038-0717(90)90117-I
- Vujanovic, V., Hamelin, R.C., Bernier, L., Vujanovic, G., St-Arnaud, M., 2007. Fungal diversity, dominance, and community structure in the rhizosphere of clonal *Picea mariana* plants throughout nursery production chronosequences. *MICROBIAL ECOLOGY* 54, 672–684. doi:10.1007/s00248-007-9226-1
- Waksman, S.A., 1936. *Humus. Origin, chemical composition, and importance in nature.* The Williams and Wilkins Company, Baltimore, USA.
- Walsh, M.J., Owen, M.J., Powles, S.B., 2007. Frequency and distribution of herbicide resistance in *Raphanus raphanistrum* populations randomly collected across the Western Australian wheatbelt. *WEED RESEARCH* 47, 542–550. doi:10.1111/j.1365-3180.2007.00593.x
- Wang, M.J., 1997. Land application of sewage sludge in China. *Science of the Total Environment* 197, 149–160. doi:10.1016/S0048-9697(97)05426-0
- Wardle, D.A., 1998. Controls of temporal variability of the soil microbial biomass: A global-scale synthesis. *Soil Biology and Biochemistry* 30, 1627–1637.
- Waring, B.G., Averill, C., Hawkes, C. V., 2013. Differences in fungal and bacterial physiology alter soil carbon and nitrogen cycling: Insights from meta-analysis and theoretical models. *Ecology Letters* 16, 887–894. doi:10.1111/ele.12125
- Watanabe, K., 2009. Detection of protease genes in field soil applied with liquid livestock feces and speculation on their function and origin. *Soil Science and Plant Nutrition* 55, 42–52. doi:10.1111/j.1747-0765.2008.00323.x
- Webster, T.M., Cardina, J., White, A.D., 2003. Weed seed rain, soil seedbanks, and seedling recruitment in no-tillage crop rotations. *Weed Science* 51, 569–575. doi:10.1614/0043-1745(2003)051[0569:WSRSSA]2.0.CO;2
- Weigelt, A., Steinlein, T., Beyschlag, W., 2002. Does plant competition intensity rather depend on biomass or on species identity? *Basic and Applied Ecology* 3, 85–94. doi:10.1078/1439-1791-00080
- Weintraub, M.N., Schimel, J.P., 2005. Seasonal protein dynamics in Alaskan arctic tundra soils. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 1469–1475. doi:10.1016/j.soilbio.2005.01.005
- Welden, C.W., Slauson, W.L., 1986. The intensity of competition versus its importance - an overlooked distinction and some implications. *Quarterly Review of Biology* 61, 23–44. doi:10.1086/414724
- Wertz, S., Degrange, V., Prosser, J.I., Poly, F., Commeaux, C., Freitag, T., Guillaumaud, N., Roux, X. Le, 2006. Maintenance of soil functioning following erosion of microbial diversity. *Environmental Microbiology* 8, 2162–2169. doi:10.1111/j.1462-2920.2006.01098.x
- Wezel, A., Casagrande, M., Celette, F., Vian, J.F., Ferrer, A., Peigné, J., 2014. Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 34, 1–20. doi:10.1007/s13593-013-0180-7
- Whalen, J.K., Warman, P.R., 1996. Arylsulfatase activity in soil and soil extracts using natural and artificial substrates. *Biology and Fertility of Soils* 22, 373–378. doi:10.1007/BF00334586
- Wichern, F., Eberhardt, E., Mayer, J., Joergensen, R.G., Müller, T., 2008. Nitrogen rhizodeposition in agricultural crops: Methods, estimates and future prospects. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 30–48. doi:10.1016/j.soilbio.2007.08.010
- Wichern, F., Mayer, J., Georg, R., Müller, T., 2007b. Rhizodeposition of C and N in peas and oats after ¹³C – ¹⁵N double labelling under field conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2527–2537. doi:10.1016/j.soilbio.2007.04.022
- Wichern, F., Mayer, J., Joergensen, R.G., Müller, T., 2007a. Release of C and N from roots of peas and oats and their availability to soil microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2829–2839. doi:10.1016/j.soilbio.2007.06.006

- Wilson, J.D., Morris, A.J., Arroyo, B.E., Clark, S.C., Bradbury, R.B., 1999. A review of the abundance and diversity of invertebrate and plant foods of granivorous birds in northern Europe in relation to agricultural change. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 75, 13–30. doi:10.1016/S0167-8809(99)00064-X
- Wolters, V., 2000. Invertebrate control of soil organic matter stability. *Biology and Fertility of Soils* 31, 1–19. doi:10.1007/s003740050618
- Worthington, M., Reberg-Horton, C., 2013. Breeding cereal crops for enhanced weed suppression: Optimizing allelopathy and competitive ability. *Journal of Chemical Ecology* 39, 213–231. doi:10.1007/s10886-013-0247-6
- Wu, J.-W., Chen, X.-L., 2011. Extracellular metalloproteases from bacteria. *Applied Microbiology And Biotechnology* 92, 253–262. doi:10.1007/s00253-011-3532-8
- Wu, J., O'Donnell, A.G., He, Z.L., Syers, J.K., 1994. Fumigation-extraction method for the measurement of soil microbial biomass-S. *Soil Biology and Biochemistry* 26, 117–125.
- Wyngaard, N., Cabrera, M.L., 2015. Measuring and estimating sulfur mineralization potential in soils amended with poultry litter or inorganic fertilizer. *Biology and Fertility of Soils* 3, 545–552. doi:10.1007/s00374-015-1000-9
- Xuan, D.T., Guong, V.T., Rosling, A., Alström, S., Chai, B., Högborg, N., 2012. Different crop rotation systems as drivers of change in soil bacterial community structure and yield of rice, *Oryza sativa*. *Biology and Fertility of Soils* 48, 217–225. doi:10.1007/s00374-011-0618-5
- Yin, L., Cai, Z., Zhong, W., 2006. Changes in weed community diversity of maize crops due to long-term fertilization. *Crop Protection* 25, 910–914. doi:10.1016/j.cropro.2005.11.013
- Yu, L., Nicolaisen, M., Larsen, J., Ravnskov, S., 2012. Succession of root-associated fungi in *Pisum sativum* during a plant growth cycle as examined by 454 pyrosequencing. *Plant and Soil* 358, 225–233. doi:10.1007/s11104-012-1188-5
- Yuan, L., Bao, D.J., Jin, Y., Yang Y.H., Huang, J.G., 2011. Influence of fertilizers on nitrogen mineralization and utilization in the rhizosphere of wheat. *Advances in Agronomy* 343, 187–193. doi:10.1007/s11104-010-0640-7
- Zaccardelli, M., Vilecco, D., Celano, G., Scotti, R., 2013. Soil amendment with seed meals: Short term effects on soil respiration and biochemical properties. *Applied Soil Ecology* 72, 225–231. doi:10.1016/j.apsoil.2013.07.004
- Zaman, M., Di, H.J., Cameron, K.C., Frampton, C.M., 1999. Gross nitrogen mineralization and nitrification rates and their relationships to enzyme activities and the soil microbial biomass in soils treated with dairy shed effluent and ammonium fertilizer at different water potentials. *Biology and Fertility of Soils* 29, 178–186. doi:10.1007/s003740050542
- Zanin, G., Otto, S., Riello, L., Borin, M., 1997. Ecological interpretation of weed flora dynamics under different tillage systems. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 66, 177–188. doi:10.1016/S0167-8809(97)00081-9
- Zechmeister-boltenstern, S., Keiblinger, K.M., Mooshammer, M., Zechmeister-boltenstern, S., 2015. The application of ecological stoichiometry to microbial decomposition : from plants to microbial communities. *Ecological Monographs* 85, 133–155.
- Zhang, X., Huang, G., Bian, X., Zhao, Q., 2013. Effects of nitrogen fertilization and root interaction on the agronomic traits of intercropped maize, and the quantity of microorganisms and activity of enzymes in the rhizosphere. *Plant and Soil* 368, 407–417. doi:10.1007/s11104-012-1528-5
- Zhao, F.J., Withers, P.J.A., Evans, E.J., Monaghan, J., Salmon, S.E., Shewry, P.R., McGrath, S.P., 1997. Sulphur nutrition: An important factor for the quality of wheat and rapeseed (Reprinted from *Plant nutrition for sustainable food production and environment*, 1997). *Soil Science And Plant Nutrition* 43, 1137–1142.
- Zhao, J., Zhang, R., Xue, C., Xun, W., Sun, L., Xu, Y., Shen, Q., 2014. Pyrosequencing Reveals Contrasting Soil Bacterial Diversity and Community Structure of Two Main Winter Wheat Cropping Systems in China. *Microbial Ecology* 67, 443–453. doi:10.1007/s00248-013-0322-0

Zimdahl, R.L., 2007. Fundamentals of weed science. Elsevier , Amsterdam, Pays-Bas. doi:10.1016/0378-4290(95)90065-9

Chapitre 2. Matériels et Méthodes

1. Expérimentation au champ

Afin d'évaluer l'effet de deux rotations différentes sur des communautés microbiennes du sol en lien avec la minéralisation de l'azote et du soufre organique et sur les communautés d'adventices, une expérimentation au champ a été menée sur 5 ans.

1.1 Présentation du site

L'expérimentation a été conduite d'août 2008 à août 2013, soit 5 campagnes de cultures, sur une parcelle (4,8 ha) de la ferme expérimentale de la Bouzule (Champenois, France, 48° 74' N, 6° 35' E). La parcelle est bordée au sud par une bande enherbée et par le ruisseau de l'Amezule. Elle est bordée à l'est par une route et des habitations et au nord et à l'ouest par des prairies (Figure 1). Le climat est océanique dégradé avec une, sur la période de l'expérimentation, une pluviométrie annuelle moyenne de 734 mm et une température annuelle moyenne de 9,9°C. Le sol est un sol brun hydromorphe sur argile limoneuse (vertic (clayic) cambisol dans la classification FAO-WRB) contenant en moyenne 62% d'argile, 35% de limon et 3% de sable (Tableau 1). Le sol de la parcelle présente un gradient est-ouest en termes de pH (pH de 7,21 à 8,04) et de teneurs en calcaire actif (8 000 à 12 800ppm de CaO) et un gradient sud-nord en termes d'humidité, lié aux inondations printanières générées par la présence de l'Amezule en bas de parcelle. De 1998 à 2008, la parcelle a été cultivée suivant la succession suivante : Blé-Maïs-Blé-Colza-Maïs-Maïs-Maïs-Blé-Maïs-Maïs-Orge de printemps.

Le dispositif expérimental mis en place correspond à un essai en 4 blocs de 7 200m² chacun (100x72m) séparés par des bandes enherbées (12m de large), perpendiculaires au gradient de calcium et de pH. Chaque bloc a été divisé en 8 parcelles (unités expérimentales) de 900m² (50x18m). Le dispositif expérimental est situé à 28m du ruisseau et 44m de la route, le reste de la parcelle étant enherbé (Figure 1).

Illustration non disponible pour des raisons de droits d'auteur

Figure 1. Vue aérienne du site expérimental. En vert clair les bandes enherbées séparant les blocs

Tableau 1. Caractéristiques du sol en avril 2009 et en avril 2014. Les valeurs correspondent à la moyenne $\pm$ erreur type de 2 points de prélèvements en 2009 et de 5 points de prélèvement en 2014

		Bloc 1	Bloc 2	Bloc 3	Bloc 4
% Argile	2009	60 $\pm$ 1,8	65 $\pm$ 0,1	61 $\pm$ 4,1	59 $\pm$ 10
% Limon	2009	36 $\pm$ 0,8	33 $\pm$ 0,3	34 $\pm$ 2,8	35 $\pm$ 6,5
% Sable	2009	4 $\pm$ 1	3 $\pm$ 1	5 $\pm$ 1	6 $\pm$ 4
pH H ₂ O	2009	7,21 $\pm$ 0,75	7,38 $\pm$ 0,40	7,41 $\pm$ 0,53	8,04 $\pm$ 0,14
pH H ₂ O	2014	7,19 $\pm$ 0,13	7,20 $\pm$ 0,14	7,61 $\pm$ 0,19	7,86 $\pm$ 0,06
Capacité au champ (% du poids sec)	2009	38	na	na	na
Capacité d'échange cationique (meq/100g)	2010	26,20	26,10	26,00	24,60
Matière organique (%)	2009	5,26 $\pm$ 0,51	5,84 $\pm$ 0,23	5,20 $\pm$ 0,07	4,73 $\pm$ 0,12
Matière organique (%)	2014	4,58 $\pm$ 0,35	4,46 $\pm$ 0,35	3,84 $\pm$ 0,48	4,22 $\pm$ 0,45
C organique (g/kg)	2009	30,4 $\pm$ 3,0	33,8 $\pm$ 1,3	30,1 $\pm$ 0,4	27,4 $\pm$ 0,6
C organique (g/kg)	2014	26,5 $\pm$ 2,1	25,7 $\pm$ 2,1	22,2 $\pm$ 2,8	24,4 $\pm$ 2,6
N total (g/kg)	2009	3,36 $\pm$ 0,21	3,64 $\pm$ 0,19	3,59 $\pm$ 0,14	2,88 $\pm$ 0,07
N total (g/kg)	2014	2,63 $\pm$ 0,18	2,60 $\pm$ 0,18	2,27 $\pm$ 0,27	2,47 $\pm$ 0,22
S total (mg/kg)	2009	707 $\pm$ 55	763 $\pm$ 23	715 $\pm$ 31	664 $\pm$ 0,5
CaO (ppm)	2010	8001	8625	9849	12848
C/N	2009	9,03 $\pm$ 0,32	9,27 $\pm$ 0,10	8,38 $\pm$ 0,20	9,52 $\pm$ 0,48
C/N	2014	9,98 $\pm$ 0,12	9,85 $\pm$ 0,13	9,71 $\pm$ 0,10	9,79 $\pm$ 0,15
C/S	2009	43,0 $\pm$ 0,9	44,2 $\pm$ 0,4	42,1 $\pm$ 1,2	41,2 $\pm$ 1,0

1.2 Les successions culturales

Deux successions culturales ont été mises en œuvre sur le dispositif expérimental : une succession de 3 ans (colza d'hiver-blé d'hiver-orge d'hiver) et une succession de 5 ans (colza d'hiver-blé d'hiver-orge d'hiver-pois de printemps-blé d'hiver). Dans chaque bloc, 3 unités expérimentales étaient cultivées en rotation de 3 ans (colza d'hiver-blé d'hiver-orge d'hiver) et 5 unités expérimentales en rotation de 5 ans (colza d'hiver-blé d'hiver-orge d'hiver-pois de printemps-blé d'hiver) (Figure 2). Sur chacune de ces unités expérimentales une rotation a été commencée à un stade différent, de sorte que toutes les cultures d'une même rotation soient présentes chaque année (Figure 3) (plan d'expérimentation en décalage de phase ; Yates, 1954). Durant la campagne 2011-2012, les parcelles semées en blé d'hiver ont subi d'importants dégâts de gel et ont dû être retournées puis emblavées en blé de printemps.

1.3 Conduite des cultures

Les règles de décision mises en œuvre sur l'essai ont été homogénéisées sur les deux systèmes de cultures. Les itinéraires techniques sont résumés en Annexe 2. Le travail du sol a consisté en un labour profond réalisé chaque année sur l'ensemble des unités expérimentales. Les semis ont été réalisés avec le même outil (semoir combiné à une herse rotative) quelle que soit la culture implantée. Un épandage de 41,7 tonnes de fumier ha⁻¹ a été effectué sur toute la parcelle en août 2009. Cet apport a été si besoin complété selon les exigences des cultures et les valeurs seuils de P et K déterminées par des analyses de sol réalisées tous les 5 ans (préconisation Comifer). Le raisonnement de la fertilisation azotée s'est fait selon la méthode du bilan pour les céréales et selon la réglette azote pour le colza. Concernant la protection phytosanitaire, les interventions ont été déclenchées en fonction des seuils du BSV pour les maladies et les ravageurs. Sur les 5 ans

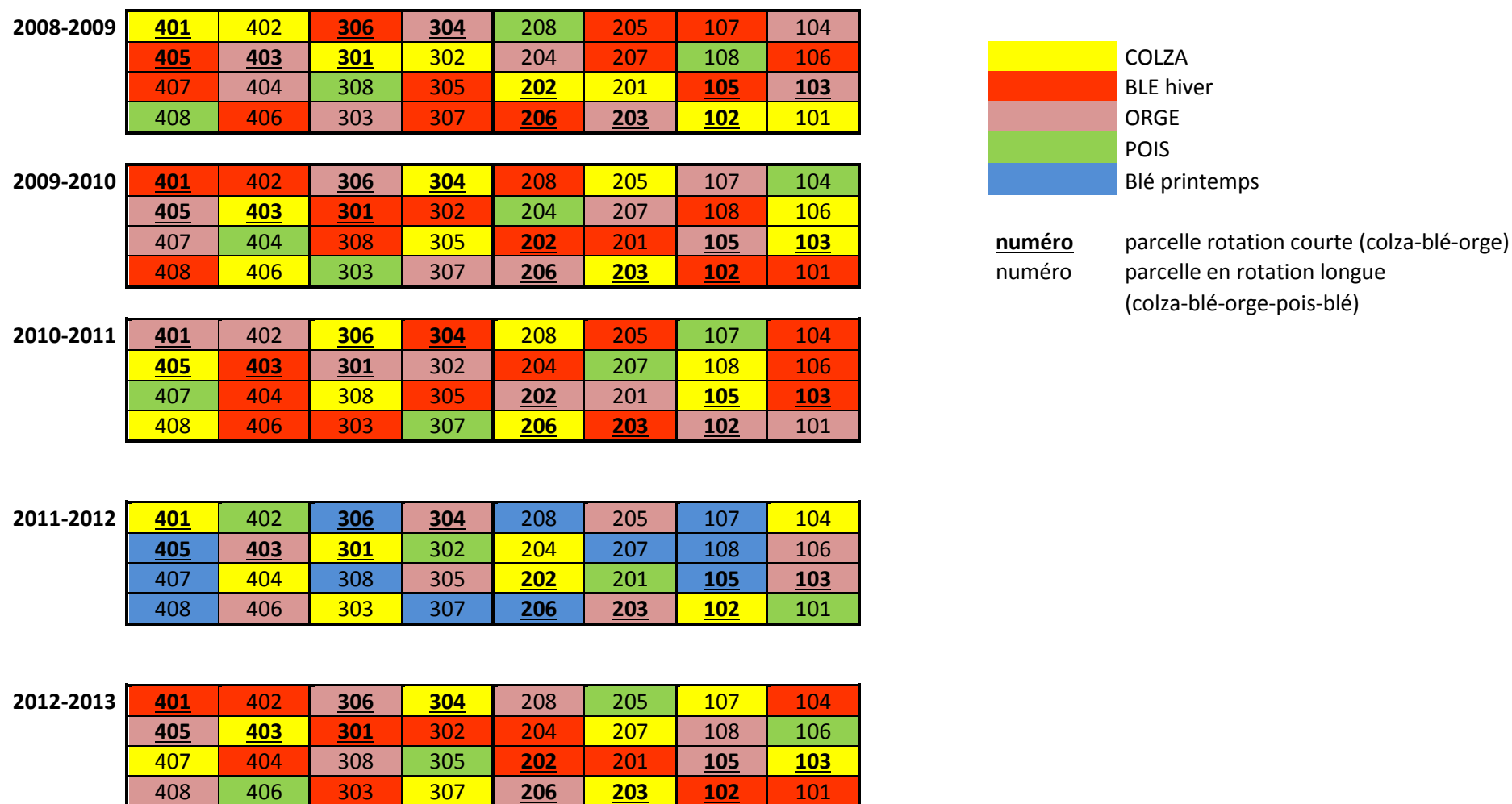


Figure 2. Plan du dispositif expérimental sur 5 ans

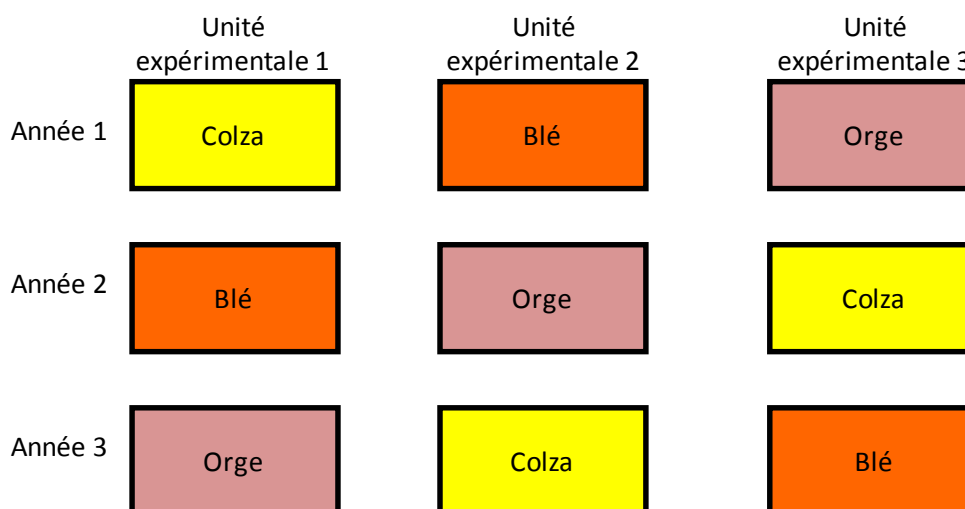


Figure 3. Exemple de d’essai rotation en décalage de phases, les rotations sont commencée à des stades différents sur des unités expérimentales différentes

d’expérimentation, l’Indice de Fréquence de Traitement (IFT) hors herbicides est compris entre 0 et 60% des valeurs de référence régionales (Annexe 2). Les traitements herbicides ont été réduits par rapport aux références régionales et l’IFT Herbicides est généralement compris entre 20 et 70% des références régionales, à l’exception du pois, où l’IFT Herbicides était compris entre 70 et 100% des références régionales en raison d’une forte infestation (Annexe 2). Après récolte, les pailles de céréales ont été exportées.

1.4 Echantillonnage au champ

1.4.1 Prélèvements du sol

Sur la période 2009-2013, des échantillons de sol (profondeur 0-10cm) ont été prélevés deux fois par an (printemps et été ; Tableau 2), à raison d’un échantillon par unité expérimentale et par date. D’une année sur l’autre, pour chaque unité expérimentale, les prélèvements de sols ont été réalisés dans la même zone repérée grâce à ses coordonnées GPS.

Le sol a été tamisé à 5 mm puis conservé à 4°C en attendant les mesures de différentes variables (Tableau 3) en lien avec la taille et l’activité des communautés microbiennes du sol (réalisées dans la semaine suivant le prélèvement). Un échantillon a été congelé à -20°C pour les mesures d’abondance de gènes microbiens et le pyroséquençage (Tableau 3). L’ensemble des variables mesurées pour chacune des années de l’essai sont présentées au Tableau 3.

Tableau 2. Dates de prélèvement du sol et stade phénologique des cultures échantillonnées

Année	Date	Colza	Blé	Orge	Pois
2009	24/04/2009	Apparition de l'inflorescence	Début montaison	Début montaison	3-4 feuilles
	02/06/2009	Floraison	Epiaison	Epiaison	Floraison
2010	06/05/2010	Floraison	Epiaison	Epiaison	8 feuilles
	02/07/2010	Maturation	Maturation	Maturation	Développement du fruit
2011	07/05/2011	Floraison	Epiaison	Epiaison	4-5 feuilles
	08/07/2011	Maturation	Maturation	Maturation	Développement du fruit
2012	14/05/2012	Développement du fruit	Début montaison	Epiaison	8-9 feuilles
	03/07/2012	Maturation	Maturation	Maturation	Développement du fruit
2013	21/05/2013	Floraison	Elongation	Elongation	6-7 feuilles
	08/07/2013	Maturation	Floraison	Floraison	Développement du fruit

Tableau 3. Variables mesurées sur le sol de l'expérimentation au champ, à chaque date de prélèvement. X : variable mesurée sur l'ensemble des parcelles, BdP : blé à précédent pois, BdC : blé à précédent colza

Années	Activité protéase	Activité arylsulfatase	Cinétique de minéralisation N	Bactéries cultivables	Bactéries cultivables à	Bactéries cultivables à	Abondances de gènes ¹	Analyse métagénomique
Avril 2009		X		X		X	X	
Juin 2009		X		X		X	X	
Mai 2010		X		X		X	X	
Juillet 2010		X		X		X	X	
Mai 2011		X		X		X	X	
Juillet 2011	X	X	X	X	X	X	X	
Mai 2012	X	X		X	X	X	X	
Juillet 2012	X	X	X	X	X	X	X	BdP, BdC
Mai 2013	X	X		X	X	X	X	
Juillet 2013	X	X	X	X	X	X	X	BdP, BdC

¹ ADNr 16S, ADNr 18S, *apr* et *sub*

Tableau 4. Liste des cultures où les adventices ont été échantillonnées. SLA : specific leaf area, LDMC : leaf dry matter content

Année	Culture	Précédent	Antéprécédent	Relevés d'adventices	Hauteur, SLA et LDMC	Etendue latérale	Biomasses de la culture et des adventices	Teneur foliaire en C, N et S
2011	Blé	Colza	Blé	X	X	X		
	Blé	Pois	Orge	X	X	X		
	Colza	Blé	Pois	X	X	X		
	Pois	Orge	Blé	X	X	X		
2012	Blé	Colza	Orge	X	X	X		X
	Blé	Pois	Orge	X	X	X		
	Orge	Blé	Colza	X	X	X		
	Pois	Orge	Blé	X	X	X		X
2013	Blé	Pois	Orge	X	X		X	X
	Colza	Orge	Blé	X	X		X	X
	Pois	Orge	Blé	X	X		X	X

1.4.2 Relevé et prélèvement des adventices

Les adventices ont été échantillonnées sur 3 campagnes successives (2011, 2012 et 2013) en juin, correspondant aux stades floraison et premières gousses du pois et formation des graines et maturation pour le colza, l'orge et le blé. Les mesures ont été effectuées seulement dans certaines cultures des blocs 1 à 3 (Tableau 4). Le bloc 4 a été exclu des analyses en raison d'une composition floristique différente, liée à la forte teneur en calcaire du sol (Kohler, 2011). L'échantillonnage de la végétation a été effectué selon la méthode des quadrats, la plus fréquemment utilisée pour l'étude des communautés d'adventices (Rew et Cousens, 2001). Cette méthode permet une détermination précise de l'abondance des différentes espèces à l'échelle du quadrat. L'échantillonnage a été réalisé le long de diagonales prédéterminées ce qui donne une meilleure estimation de l'abondance des principales espèces d'adventices à l'échelle de la parcelle comparée à un échantillonnage aléatoire (Colbach et al., 2000).

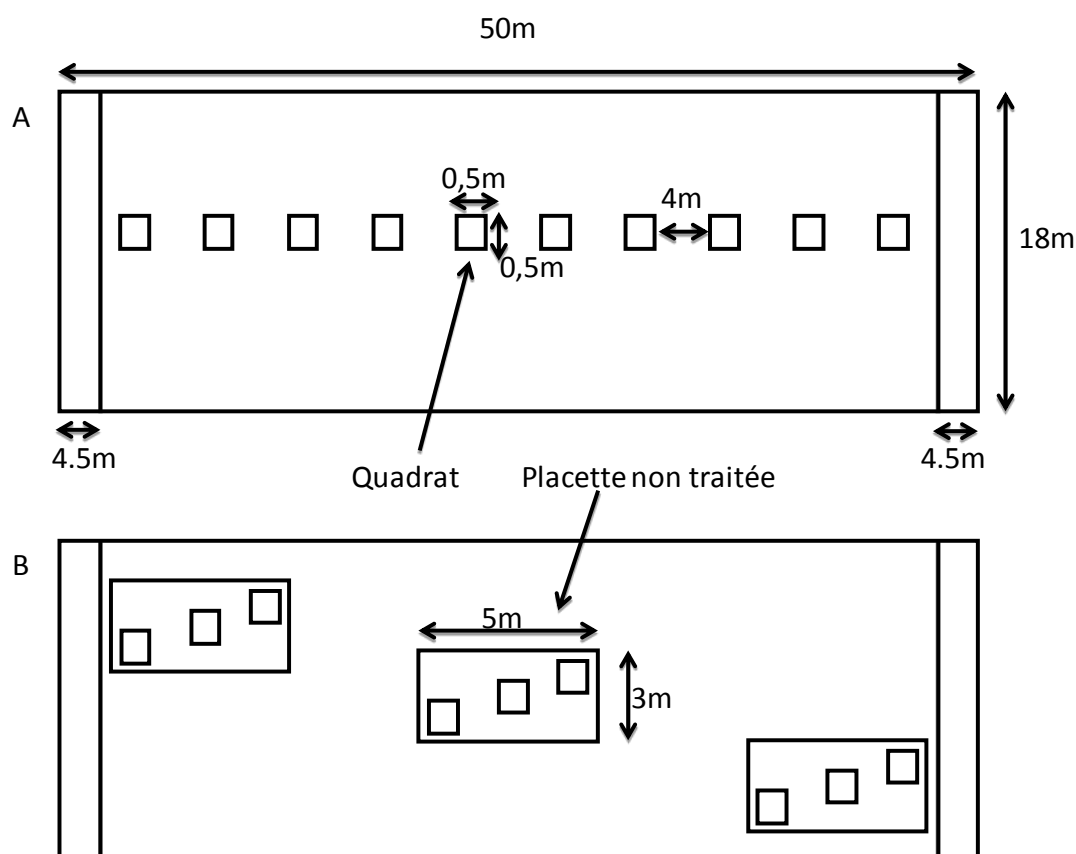


Figure 4. Plan de prélèvement des adventices. A) plan de prélèvement dans une culture non traitée aux herbicides, B) plan de prélèvement dans une culture traitée aux herbicides

Dans les cultures n'ayant pas reçu de traitement herbicide au printemps, les adventices ont été échantillonnées dans 9 (en 2012 et 2013) ou 10 (en 2011) quadrats de 0,5 X 0,5m disposés sur un transect longitudinal au centre de chaque unité expérimentale (Figures 4 et 5). Dans les cultures ayant reçu un traitement herbicide, trois zones de 15m² (5 X 3m) disposées en diagonale dans chaque unité expérimentale, ont été protégées des traitements herbicides par des bâches mises en place au moment du traitement. Dans chacun de ces témoins sans herbicides, les adventices ont été échantillonnées dans 3 quadrats de 0,5 X 0,5m (soit 9 quadrats par unité expérimentale, Figures 4 et 5). Les quadrats étaient positionnés à plus de 4,5m du bord de l'unité expérimentale afin d'éviter un éventuel effet bordure.

Dans chaque quadrat, le nombre de pieds de chaque espèce d'adventices a été déterminé. Un maximum de 20 individus par espèce a été prélevé pour la mesure des traits fonctionnels. Les traits fonctionnels mesurés sont présentés dans le tableau 4 et détaillés dans le paragraphe 4. Vingt individus de la culture ont également été prélevés aléatoirement dans l'unité expérimentale et les traits fonctionnels ont également été mesurés.

En 2013, l'intégralité des adventices et des plantes cultivées de chaque quadrat ont été prélevées pour déterminer leurs biomasses respectives.



Figure 5. Adventices dans le pois en juin 2013

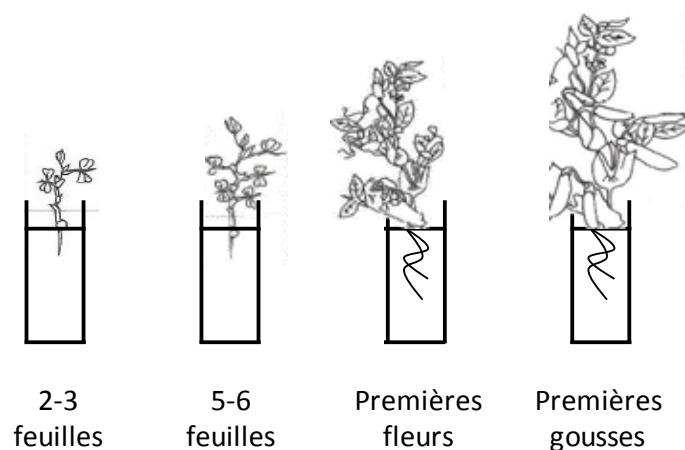
2. Expérimentation en conditions contrôlées

Une expérimentation en conditions contrôlées a été mise en place afin d'étudier l'effet du développement du pois et du blé et des résidus du pois sur les communautés microbiennes protéolytiques et ammonifiantes (Figure 6).

2.1 Expérimentation 1 : effet du développement du pois sur les communautés microbiennes protéolytiques et ammonifiantes

Du sol provenant du bloc 1 de l'essai au champ (argile 60%, limon 36%, sable 4%, C organique 26 g kg⁻¹, N total 2.6 g kg⁻¹, pH (eau) 7.1), précédemment cultivée en orge et laissée nu depuis la récolte, a été collecté en février 2013, tamisé à 5mm et mélangé avec 10% (m/m) de sable 0/4 afin de faciliter la collecte ultérieure des racines. La moitié de ce sol a été semé avec du pois de printemps (*Pisum sativum* L., cv. Kayanne) à raison d'une semence par pot dans des tubes en PVC (8x15cm) contenant 354g équivalent sec de mélange sol-sable. La deuxième moitié du mélange sol-sable a été conservée à

Expérimentation 1



Expérimentation 2

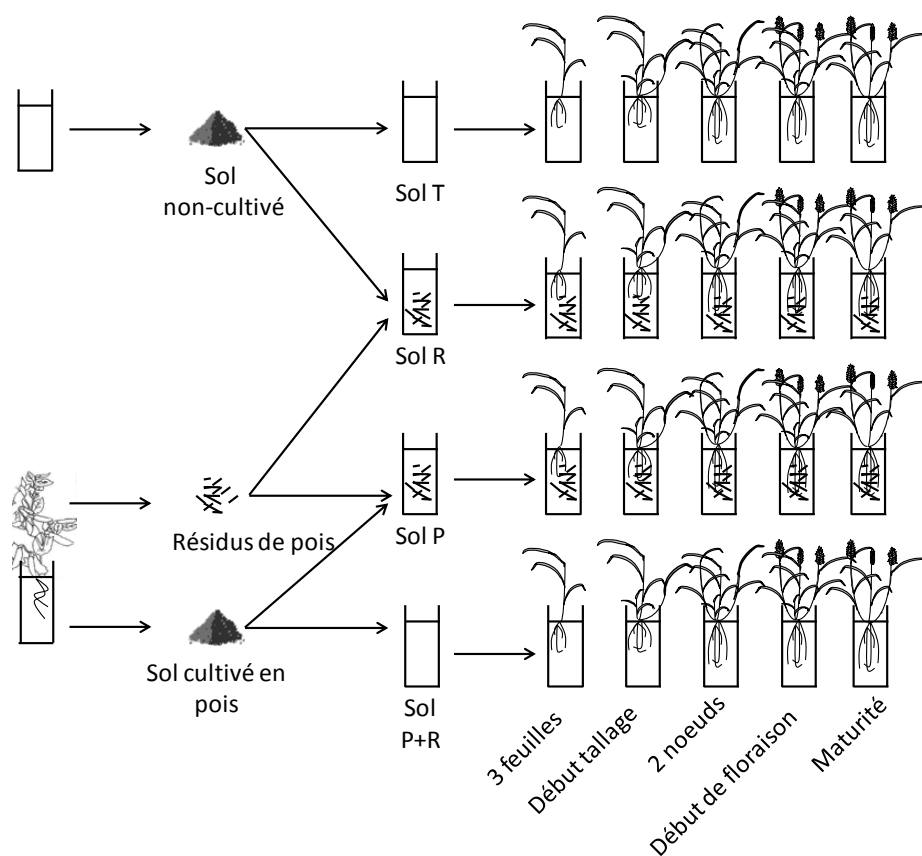


Figure 6. Schéma du dispositif expérimental en conditions contrôlées. Expérimentation 1 : culture du pois. Expérimentation 2 : culture du blé dans quatre sols différents

l'obscurité dans les mêmes conditions de température et d'humidité que le sol semé.

Cent plantes ont été mises en culture dans une enceinte climatique avec une photopériode de 16h, une température de 22,5 °C /18 °C (jour/nuit), sans fertilisation (Figure 7-A). L'éclairage (MH Daylight 400 W, Osram, Munich, Allemagne) fournissait 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiations photosynthétiquement actives. Le mélange sol-sable a été maintenu à 80% de sa capacité de rétention en pesant les pots 5 fois par semaine et en arrosant, si nécessaire, avec de l'eau du robinet.

Aux stades 3 feuilles, 5 feuilles, premières fleurs et premières gousses, correspondant respectivement à 10, 22, 49 et 59 jours après émergence, 4 tubes ont été choisis aléatoirement et ouverts à la scie circulaire (Figure 7-B). Les 80 plantes restantes après le dernier point de prélèvement ont été cultivées jusqu'à maturité. Après ouverture des tubes, les parties aériennes ont été séparées du système sol-racines et collectées. Les racines ont été manuellement séparées du sol, collectées à l'aide d'une pince à épiler et nettoyées à l'eau du robinet. Un ensemble de traits fonctionnels aériens et racinaires ont alors été immédiatement mesurés (Tableau 5 et paragraphe 4.3). Le sol a été conservé à 4°C maximum 3 jours en attendant la mesure des activités enzymatiques et des variables du sol liées à la disponibilité en C et N. Des sous-échantillons de sol ont été immédiatement congelés à -20°C en attendant l'extraction d'ADN et la mesure de l'abondance des gènes ADNr 16S et *apr*. La liste des variables mesurées sur le sol est présentée dans le Tableau 5.

2.2 Expérimentation 2 : effet du précédent cultural, de l'enfouissement des résidus du pois et du développement du blé sur les communautés microbiennes protéolytiques et ammonifiantes

A la fin du cycle de développement du pois, les 80 pots de pois restants ont été ouverts, les parties aériennes ont été collectées et le système racinaire séparé manuellement du sol. Ce sol a été utilisé comme « sol avec précédent pois » (P). Le sol non cultivé et stocké durant la culture de pois, à l'obscurité, dans la chambre de culture (paragraphe 2.1), a été utilisé comme « sol témoin » (T) (Figure 6). Les parties aériennes et racinaires du pois, collectées à l'ouverture des pots, ont été séchées à 60°C, mélangées, coupées en morceaux de 2-3mm avec des ciseaux, puis leurs teneurs en C ont été déterminées en utilisant un autoanalyseur élémentaire Flash EA 1112 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA). La teneur en C des résidus de pois était de 38,7%. Ces résidus ont été utilisés pour amender la moitié des sols P et T, à raison de 1g équivalent carbone par kilogramme de sol sec, une valeur proche des quantités de résidus enfouis au champ (Mary et al., 1996 ; Carrouée et al., 1999). Le sol P amendé avec les résidus de pois correspond au « sol avec précédent pois et résidus de pois » (P+R). Le sol C amendé avec les résidus de pois correspond au « sol avec résidus de pois » (R). Du blé de printemps (*Triticum aestivum* L., cv. Sensas) a été semé à raison d'une semence par pot dans des tubes en PVC (8X15cm) contenant 354g équivalent sec de sol. Le blé de printemps a été préféré au blé

d'hiver en raison des contraintes inhérentes à l'expérimentation en chambre climatique, le blé de printemps ayant un cycle de développement court et ne demandant pas de vernalisation, contrairement au blé d'hiver. Les plantes ont été disposées de manière aléatoire dans la chambre de culture et cultivées dans les mêmes conditions que celles décrites précédemment pour la culture de pois. Les plantes ont été fertilisées entre les stades 3 feuilles et tallage, avec de l'ammonitrate à raison de 5mg d'azote par pot (équivalent de 50 unités N ha⁻¹).

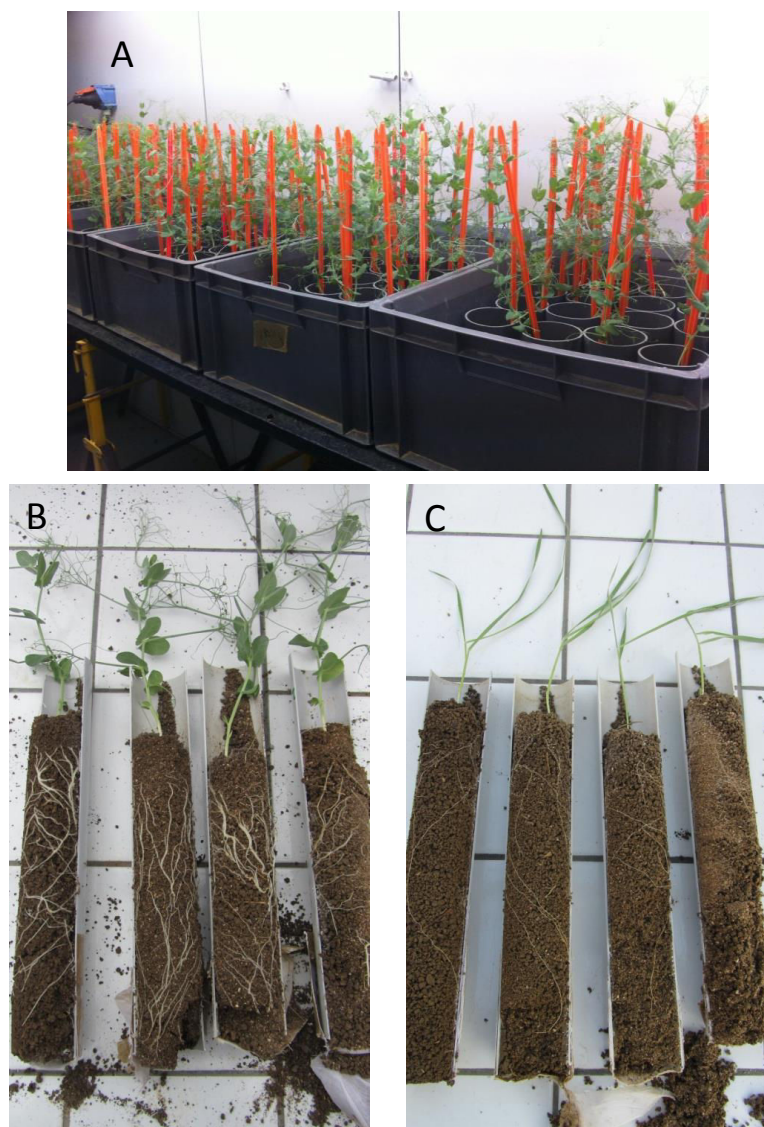


Figure 7. Expérimentation en phytotron. A : culture du pois en phytotron, B : pois au stade 5 feuilles, C : blé au stade 3 feuilles

Quatre plantes de chacune des modalités (T, P, P+R, R) ont été échantillonnées aléatoirement aux stades 3 feuilles, début tallage, 2 nœuds, début de floraison et maturité, correspondant respectivement à 14, 22, 28, 41, 75 et 89 jours après émergence (Figure 7-C). Les tubes ont été ouverts

à la scie circulaire, et les parties aériennes, les racines et le sol ont été collectés et conservés comme décrit au paragraphe 2.1. La liste des variables mesurées sur le sol est présentée dans le Tableau 5.

Tableau 5. Variables mesurées dans le cadre de l'expérimentation en conditions contrôlées

Traits fonctionnels aériens	Traits fonctionnels racinaires	Variables mesurées sur le sol	Variables microbiennes
Teneur en C et N	Root mass fraction	pH	Activité protéase
Teneur en matière sèche	(RMF)	C et N totaux	potentielle
	Longueur	C et N solubles à l'eau chaude	Activité ammonification
	Diamètre moyen	NO ₃ ⁻	potentielle
	Root dry matter content (RDMC)	NH ₄ ⁺	Abondance de gènes
	Root tissue density (RTD)		ADNr 16S*
	Specific root length (SRL)		Abondance de gènes <i>apr</i> *
	Pourcentage de longueur de racines fines		Biomasse microbienne C et N
	Teneur en C et N total		
	Teneur en C et N soluble		

*Variables mesurées uniquement sur les sols cultivés en pois

3. Variables mesurées sur le sol

3.1 Teneur des sols en C et N totaux et solubles et en N minéral

La teneur des sols en C et N totaux a été déterminée en utilisant un autoanalyseur élémentaire Flash EA 1112 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA), à partir d'un échantillon de 2-3mg de sol sec broyé. Pour déterminer la teneur des sols en NO₃⁻ et NH₄⁺, 10 grammes de sol frais ont été agités 1h sur un agitateur orbital avec 100mL de KCl 2M puis filtrés sur un papier filtre Whatman n° 42 (Harper, 1924). La teneur en azote minéral des extraits au KCl a été déterminée en utilisant un spectromètre d'absorption moléculaire SAN++ CFA (Skalar Analytical, Breda, Pays-Bas).

Les gammes étalons pour le nitrate et l'ammonium ont été réalisées respectivement à l'aide de KNO₃ et de NO₃NH₄, pour des concentrations allant de 0,5 à 20 mg N-NO₃ L⁻¹ ou mg N-NH₄ L⁻¹. La teneur en azote a été exprimée en µg N-NO₃ ou µg N-NH₄ g⁻¹ sol sec.

Le sol résiduel a alors été séché 24h à température ambiante. Le carbone et l'azote organique ont ensuite été extraits à l'eau chaude comme décrit par Vong et al. (2007). La teneur en C et N des extraits à l'eau chaude a été déterminée avec un TOC-V CSH (Shimadzu, Kyoto, Japon).

3.2 Activités enzymatiques microbiennes

L'activité potentielle arylsulfatase a été mesurée d'après le protocole de Tabatabai et Bremner (1970). Un gramme de sol a été incubé pendant 1h à 37°C avec 1mL de p-nitro-phenyl sulfate (Sigma-Aldrich, Saint-Louis, Etats-Unis) à 25mM (substrat de l'enzyme), 0,25mL de toluène et 4mL de tampon acétate de sodium 0,5M, pH 5,8. L'ajout de toluène permet d'empêcher la synthèse de nouvelles enzymes et de rendre accessible au substrat les enzymes intracellulaires en perméabilisant les membranes cellulaires (Frankenberger et Johanson, 1986). La réaction a été stoppée par l'ajout de 1mL de CaCl_2 0,5M et de 4mL de NaOH 0,5M. La solution a été filtrée sur papier filtre 2V. La quantité de p-nitro-phénol libérée pendant l'incubation a été mesurée par absorbance à 400nm avec un spectrophotomètre Cary 300 Scan (Varian, Palo Alto, Etats-Unis) et le logiciel Cary Win UV 3. Les blancs réactionnels ont été réalisés en incubant chaque sol dans les mêmes conditions que les échantillons, à l'exception du substrat de l'enzyme, ajouté après l'arrêt de la réaction. Une gamme étalon a été réalisée à l'aide de p-nitro-phénol, pour des concentrations allant de 9 à 15 $\mu\text{g mL}^{-1}$. L'activité potentielle arylsulfatase a été exprimée en $\mu\text{g p-nitro-phénol h}^{-1} \text{ g sol sec}^{-1}$.

L'activité potentielle protéase a été mesurée d'après le protocole de Ladd et Butler (1972). Un gramme de sol frais a été incubé pendant 4h à 45°C avec 2,5mL de tampon Tris-HCl 0,1M, pH 8 et 2,5mL d'une solution de caséinate de sodium (Sigma-Aldrich, Saint-Louis, Etats-Unis) à 2% (substrat de l'enzyme). Cinq millilitres d'acide trichloroacétique à 10% ont été ajoutés à la fin de l'incubation pour stopper la réaction. Après centrifugation à 16 000g pendant 2min, 0,5mL de surnageant ont été mélangés avec 0,75mL de carbonate de sodium à 1,4M et 0,25mL de réactif de Folin-Ciocalteu à 16,5%. Après 5 min d'incubation, la quantité de tyrosine libérée pendant l'incubation a été déterminée par colorimétrie à 680nm avec un spectrophotomètre Cary® 300 (Varian, Palo Alto, Etats-Unis) et le logiciel Cary Win UV 3. Les blancs réactionnels ont été réalisés en incubant chaque sol dans les mêmes conditions que les échantillons, à l'exception du substrat de l'enzyme, ajouté après l'arrêt de la réaction. La gamme étalon était composée de tyrosine de 100 à 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. L'activité potentielle protéase a été exprimée en $\mu\text{g Tyr h}^{-1} \text{ g sol sec}^{-1}$.

L'activité potentielle d'ammonification a été mesurée d'après le protocole de Bonde et al. (2001). Un gramme de sol frais a été mélangé avec 1,8mL d'eau déminéralisée et 0,2mL d'une solution de L-arginine à 10mM (substrat de l'enzyme) puis incubé 1,5h à 22°C sans agitation. Après ajout de 0,8mL d'une solution de KCl à 2M à 4°C, les échantillons ont été centrifugés à 16 000g pendant 10min

à 4°C. La teneur en NH_4^+ du surnageant a été déterminée en utilisant un spectromètre d'absorption moléculaire SAN++ CFA (Skalar Analytical, Breda, Pays-Bas). Les dosages ont été réalisés à l'Unité de Recherche Biogéochimie des Ecosystèmes Forestiers (Champenoux, France). Les blancs réactionnels ont été réalisés en incubant chaque sol dans les mêmes conditions que l'échantillon, à l'exception du substrat de l'enzyme, ajouté après ajout de la solution de KCl à 2M. La gamme étalon a été réalisée à partir de NO_3NH_4 , pour des concentrations allant de 0,5 à 20 $\text{mgN-NH}_4 \text{ L}^{-1}$. L'activité potentielle d'ammonification a été exprimée en $\mu\text{gN-NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ sol sec}$.

3.3 Cinétiques de minéralisation de l'azote et du soufre

Les cinétiques de minéralisation ont été réalisées sur 10g équivalent sec de sol maintenu à 100% de la capacité au champ et à 20°C à l'obscurité. Le sol a été placé dans des conditions non limitantes en azote et en soufre par ajout de $70\mu\text{g N-KNO}_3 \text{ g}^{-1} \text{ sol sec}$ et de $20\mu\text{g S-Na}_2\text{SO}_4 \text{ g}^{-1} \text{ sol sec}$ (Recous et al., 1995). A 0, 3, 7, 14 et 28 jours après mise en incubation, les nitrates et les sulfates ont été extraits du sol par agitation orbitale de 5g de sol dans 25mL de KH_2PO_4 16mM pendant 30min (Walker et Doornenbal, 1972). Le mélange sol- KH_2PO_4 a ensuite été filtré une première fois sur papier filtre 2V (Whatman, Maidstone, Royaume-Uni) et une deuxième fois sur filtre Minisart® 0,45 μm (Sartorius AG, Göttingen, Allemagne). Les extraits KH_2PO_4 ont été congelés à -20°C en attendant le dosage de la teneur en nitrates et sulfates par chromatographie ionique Dionex, réalisée au Laboratoire Sol et Environnement (Vandoeuvre-lès-Nancy, France).

3.4 Abondance des bactéries cultivables

Les abondances de bactéries cultivables ont été déterminées à partir d'une suspension de 10g de sol frais réalisée dans 100mL de tampon PBS stérile (NaCl 8 g L^{-1} , Na_2HPO_4 1,44 g L^{-1} , KH_2PO_4 0,24 g L^{-1} , pH 7,2) par agitation à 120rpm pendant 30min.

Les bactéries cultivables totales ont été dénombrées par étalement de la suspension de sol diluée de 1000 à 10 000 fois en triplicata sur un milieu de culture solide TSA au 10^{ème} (trypticase soy agar 4g L^{-1} , agar 13,5g L^{-1} , pH 7,3). Les colonies ont été comptées après 10 jours d'incubation à 28°C. L'abondance de bactéries a été exprimée en Unités Formant Colonies (UFC) par $\text{g}^{-1} \text{ sol sec}$.

Les bactéries cultivables possédant l'activité arylsulfatase ont été dénombrées par étalement de la suspension de sol diluée de 1000 fois en triplicata sur un milieu de culture solide M9 supplémenté en X-sulf (Na_2HPO_4 , 7H₂O 12.8 g L^{-1} , KH_2PO_4 3 g L^{-1} , NaCl 0.5 g L^{-1} , NH_4Cl 1 g L^{-1} , glucose 4 g L^{-1} , MgCl_2 , 6H₂O 0.4 g L^{-1} , CaCl_2 , 2H₂O $1.47 \times 10^{-2} \text{ g L}^{-1}$, biotine 5 mg L^{-1} , thiamine 5 mg L^{-1} , cycloheximide 100 mg L^{-1} , agar 15 g L^{-1} , et 0.1 g L^{-1} de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl sulfate potassium salt (X-sulf, Sigma, France),

pH 7) (Cregut et al., 2009). Le X-sulf est un substrat chromogène qui se colore en bleu lorsque la liaison ester sulfate est hydrolysée (Wyss, 1989). Les colonies bleues (exprimant l'activité arylsulfatase) ont été comptées après 21 jours d'incubation à 28°C. L'abondance de bactéries a été exprimée en Unités Formant Colonies (UFC) par g⁻¹ sol sec.

Les bactéries cultivables possédant l'activité protéase ont été dénombrées par étalement de la suspension de sol diluée de 1000 à 10 000 fois en triplicata sur un milieu de culture solide caséinate de calcium-agar 30,7g L⁻¹, pH 7. Les colonies entourées d'un halo clair (exprimant l'activité protéase extracellulaire) ont été comptées après 10 jours d'incubation à 28°C. L'abondance de bactéries a été exprimée en Unités Formant Colonies (UFC) par g⁻¹ sol sec.

3.5 Biomasses microbiennes C et N

Les biomasses microbiennes C et N ont été mesurées par fumigation-extraction (Vance et al., 1987). Dix grammes de sol ont été fumigés pendant 24h à 25°C dans un dessiccateur contenant 50mL de chloroforme et dont la pression atmosphérique a été réduite jusqu'à ébullition du chloroforme. Les sols témoins n'ont pas été fumigés. Le carbone et l'azote des sols fumigés et des sols témoins ont été extraits par agitation pendant 40mn sur un agitateur orbital avec du K₂SO₄ 0,5M (proportion 1:5 m/v) puis filtration sur papier Whatman n° 42. Les extraits ont été congelés à -20°C en attendant l'analyse. Les concentrations en C et N des extraits ont été déterminées avec un TOC-V CSH (Shimadzu, Kyoto, Japan). Les biomasses microbiennes ont été déterminées par différence entre les teneurs en C et N

Tableau 6. Séquence des amorces utilisées pour la quantification des communautés microbiennes par PCR en temps réel

Gène	Référence	Amorces	Taille du fragment amplifié (pb)
ARNr16S	López-Gutiérrez et al., 2004	341F 5'-CGTACGGGAGGCAGCAG-3'	250
		534R 5'-ATTACGGCGGCTGCTGGC-3'	
ARNr18S	Prévost-Bouré et al., 2011	FR1 5'-AICCATTCATCGGTAIT-3'	350
		FF390 5'-CGATAACGAACGAGACCT-3'	
sub	Bach et al., 2002	FsubIA 5'-ATGSAYRTTRYAAYATGAG-3'	319
		RsubII 5'-GWGWHGCCATNGAYGTWC-3'	
apr	Bach et al., 2002	FaprI 5'-TAYGGBTTCAAYTCCAAYAC-3'	194
		RaprII 5'-VGCGATSGAMACRTTRCC-3'	

des sols témoins et les teneurs en C et N des sols fumigés et division par un coefficient d'extraction, de 0,45 pour la biomasse microbienne C (Vance et al., 1987) et de 0,54 pour la biomasse microbienne N (Brookes et al., 1985).

3.6 Extractions d'ADN de sol et PCR quantitative

L'abondance des communautés bactériennes et fongiques totales ainsi que des communautés bactériennes possédant des gènes codant des métalloprotéases alcalines (gènes *apr*) et des subtilisines (gènes *sub*) a été évaluée par PCR quantitative en temps réel ciblant, respectivement, les gènes ADNr 16S, ADNr 18S, *apr* et *sub*. Les séquences des amorces utilisées pour chaque gène sont données dans le Tableau 6.

L'ADN du sol a été extrait à partir de 0,5 g de sol avec le kit Fast DNA® SPIN Kit for Soil (MP Biomedical, Santa Anna, USA), selon les recommandations du fournisseur.

Pour l'ADNr 16S, le mélange réactionnel, d'un volume final de 10 µL, contenait 10 ng d'ADN, du Power SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, USA) 1x, 1 µM de chaque amorce et 250 ng de T4Gene 32 (MP Biomedicals, Strasbourg, France). Les conditions de PCR étaient : 95 °C pour 10 min, 35 cycles de 15 s à 95 °C, 30 s à 60 °C, 30 s à 72 °C (Lopez-Gutiérrez et al., 2004). La lecture de la fluorescence a été réalisée à 80 °C. Pour l'ADNr 18S, le mélange réactionnel, d'un volume final de 20 µL, contenait 10 ng d'ADN, du Power SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, USA) 1x, 1,25 µM de chaque amorce et 200 ng de T4Gene 32 (MP Biomedicals, Strasbourg, France). Les conditions de PCR étaient : 95 °C pour 10 min, 40 cycles de 15 s à 95 °C, 30 s à 50 °C, 60 s à 70 °C (Prévost-Bouré et al., 2011). La lecture de la fluorescence a été réalisée à 75°C. Pour les gènes *apr* et *sub*, le mélange réactionnel, d'un volume final de 20 µL, contenait 10 ng d'ADN, du Power SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, USA) 1x, 1,75 µM de chaque amorce et 150 ng de T4Gene 32 (MP Biomedicals, Strasbourg, France). Les conditions de PCR étaient : 95 °C pour 10 min, 40 cycles de 20 s à 95 °C, 30 s à 53 °C, 60 s à 72 °C (Gschwendtner et al., 2010). La lecture de la fluorescence a été réalisée à 78 °C pour le gène *apr* et à 80 °C pour le gène *sub*.

Chaque échantillon a été amplifié en triplicata sur différentes plaques PCR. Les PCR ont été réalisées dans un thermocycleur StepOnePlus™ (Applied Biosystems, Foster City, USA). Les courbes étalons ont été obtenues à partir de 5 (10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 et 10^7 copies par réaction PCR) de plasmide pCR®8/GW/TOPO® (Invitrogen, Carlsbad, Etats-Unis) linéarisés avec l'enzyme Xba I et contenant une séquence standard de chacun des gènes cibles. Les séquences standard étaient un gène d'ARNr 16S de *Rhodococcus sp*, un gène d'ARNr 18S d'une souche de *Fusarium sp* isolée à partir de sol

agricole, une séquence *sub* clonée à partir d'ADN extrait de sol agricole et une séquence *apr* de *Pseudomonas aeruginosa* PAO1.

Le contrôle du cycle de PCR, la collecte des données et les calculs de concentration ont réalisés avec le logiciel StepOne™ Software v.2.1. La spécificité de l'amplification a été contrôlée par analyse des courbes de fusion et par électrophorèse des produits de PCR sur gel d'agarose 1,5% (m/v).

3.7 Analyse métagénomique

Le séquençage de l'ADNr 16S à partir d'échantillons d'ADN extraits de sol a été réalisé par Genoscreen (Lille, France) sur un séquenceur GS-FLX 454 (Roche Diagnostics, Meylan, France), basé sur la chimie du titane. Les régions V3 et V4 de l'ADNr 16S ont été amplifiées par PCR, puis des SIMs® (Sample Identifier Multiplex) et des adaptateurs GS FLX ont été ajoutés aux amplicons lors d'une deuxième PCR. Les différents échantillons ont ensuite été mélangés pour former des multiplex de 8 échantillons qui ont été séquencés par PCR sur billes en émulsion. A l'issue du séquençage les séquences obtenues ont été traitées par Genoscreen (Lille, France) suivant leur stratégie MetaBiote®. Les séquences de faible qualité ont été éliminées : séquences inférieures à 200 ou supérieures à 600 bases, présentant des bases ambiguës, un code de qualité moyen inférieur à 25, des homopolymères de plus de 6 bases ou des erreurs dans la séquence des amorces ou des SIMs®. Les séquences ont ensuite été traitées séparément pour chaque année conformément à la procédure standard de Schloss et al. (2011) avec le logiciel Mothur v.1.35.1 (Schloss et al., 2009). Les séquences ont été alignées par rapport à la base de données SILVA v.102 (Pruesse et al., 2007) avec un seuil de confiance de 50%. Les séquences potentiellement chimériques ont été éliminées grâce au programme UCHIME (Edgar et al., 2011) implémenté dans Mothur v.1.35.1 en utilisant les séquences comme leur propre référence. Les séquences ont été regroupées en Operational Taxonomic Unit (OTU) au seuil de 97% d'homologie en utilisant l'algorithme « average neighbor », et la séquence la plus abondante a été choisie comme la séquence représentative. Les séquences ont reçu une affiliation taxonomique par comparaison avec la base de données Ribosomal Database Project v.9 (Cole et al., 2014) en utilisant la méthode de Wang et al. (2007) avec un seuil de confiance de 80%. Un arbre phylogénétique a été généré pour chaque année à partir de l'ensemble des séquences de tous les échantillons en utilisant l'algorithme « relaxed neighbor joining » (Evans et al., 2006).

4. Variables mesurées sur les plantes cultivées et adventices

4.1 Détermination des adventices et mesure de la biomasse

Dans chaque quadrat, les espèces d'aventices ont été déterminées à l'aide d'une flore (Mamarot et Rodriguez, 2011) et l'abondance (nombre de pieds m^{-2}) de chaque espèce d'aventices a été estimée. En 2013, les biomasses respectives de la culture et des adventices ont été mesurées après 1 mois de séchage à température ambiante et exprimées en g m^{-2} .

4.2 Mesure des traits fonctionnels aériens

Des traits fonctionnels aériens liés à l'acquisition des ressources, à l'effet compétitif et à la réponse compétitive (Tableau 7) ont été mesurés sur la culture et les communautés d'aventices. Les traits fonctionnels ont été mesurés sur chaque individu de chaque espèce d'aventices échantillonnée au champ avec un maximum de 20 individus par espèce et par quadrat, comme décrit par Cornelissen et al. (2003). Les traits fonctionnels de 20 individus de la culture par parcelle ont également été mesurés. La hauteur végétative étirée a été mesurée du sol au sommet de la plus haute feuille étirée.

L'étendue latérale, pour laquelle il n'existe pas de protocole standard, a été estimée comme la largeur maximale de l'individu posé au sol sans tenter d'étirer les feuilles. La feuille saine la plus récemment déployée de chaque individu a été prélevée et conservée dans de l'eau déminéralisée (au maximum 24h) en attendant la mesure des traits fonctionnels foliaires (masse fraîche, masse sèche et surface). La masse fraîche des feuilles a été mesurée à pleine turgescence. La surface foliaire a été mesurée grâce à un planimètre LI 3050 (LI-COR Biosciences, Lincoln, Etats-Unis) sur les feuilles fraîches. La masse sèche a été mesurée après passage à l'étuve à 60°C pendant minimum 72h.

Tableau 7. Correspondance entre traits fonctionnels et caractéristiques physiologiques des plantes impliquées dans les processus écosystémiques

Trait fonctionnel	Caractéristiques physiologiques et processus écosystémiques correspondants	Référence
Traits racinaires		
Biomasse racinaire	Rhizodéposition	De Graaff et al., 2007
Longueur racinaire	Prélèvement de nutriments	Römer et al., 1988 ; Robinson et al., 1994
Proportion de racines fines	Prélèvement de nutriments	Eissenstat, 1992
Diamètre moyen	Prélèvement de nutriments	Eissenstat, 1992
Specific Root Length (SRL)	Prélèvement de nutriments, turnover	Eissenstat, 1992 ; Ryser, 2006 ; Mommer et al., 2011
Root Tissue Density (RTD) et Root Dry Matter Content (RDMC)	Décomposabilité Prélèvement et rétention de nutriments	Eissenstat et Yanai, 1997 ; Grassein et al., 2015 ; Pérez-Ramos et al., 2012
Teneur racinaire en C et N	Décomposabilité	Reich et al., 1998 ; Tjoelker et al., 2005 ;
Teneur racinaire en C et N soluble	Rhizodéposition de C et N	Vong et al., 2007 ; Roumet et al., 2008
Traits aériens		
Leaf Dry Matter Content (LDMC)	Effet compétitif, conservation des ressources, taux de croissance	Singh et Singh, 2012; Gross et al., 2007
Specific Leaf Area (SLA)	Croissance en situation d'ombrage, capacité photosynthétique	Moukoubi et al., 2011 ; Mohammadi, 2007 ; Violle et al., 2009 ; Storkey, 2005
Teneur foliaire en N	Capacité photosynthétique, acquisition de ressources	Storkey, 2005 ; Walker et al., 2014 ; Tribouillois et al., 2015
Teneur foliaire en S	Acquisition de ressources	Ramesh, 2006
Teneur foliaire en C	Acquisition et conservation de ressources	Schadler et al., 2003 ; Parelle et al., 2006
Hauteur	Effet compétitif	Den Hollander et al., 2007 ; Deveikyte et al., 2008 ; Mason et al., 2007
Etendue latérale	Effet compétitif	Gross et al., 2007

La surface, la masse fraîche et la masse sèche des feuilles ont été mesurées et utilisées pour calculer :

- la surface foliaire spécifique (SLA, Specific Leaf Area, $\frac{\text{Surface feuille}}{\text{Masse sèche feuille}}, \text{ m}^2 \text{ kg}^{-1}$)
- la teneur foliaire en matière sèche (LDMC, Leaf Dry Matter Content, $\frac{\text{Masse sèche feuille}}{\text{Masse fraîche feuille}}, \text{ mg g}^{-1}$).

Pour l'analyse de la teneur foliaire en C, N et S, les feuilles prélevées dans le même quadrat pour une espèce donnée ont été regroupées afin d'atteindre la masse de matière sèche nécessaire au dosage (10-15mg). Certaines espèces ont été exclues du dosage en raison de leur masse foliaire trop faible (Tableau 8). Les feuilles sèches ont été broyées avec un broyeur à billes MM 400 (Retsch, Haan, Germany) et la teneur en C, N et S de la poudre obtenue a été déterminée en utilisant un autoanalyseur élémentaire Flash EA 1112 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) sur 10-15mg de matière sèche en présence de 2-3mg de V_2O_5 , utilisé pour catalyser l'oxydoréduction du soufre.

4.3 Mesure des traits fonctionnels racinaires

Des traits fonctionnels racinaires liés à l'acquisition des nutriments, à la rhizodéposition et à la décomposabilité de la litière racinaire (Tableau 6) ont été mesurés sur les plants de pois et de blé cultivés en conditions contrôlées, à chaque date de prélèvement.

Pour la mesure des traits fonctionnels d'architecture racinaire, le système racinaire a été étalé dans 1cm d'eau déminéralisée dans une cuve en acrylique (40 X 30cm) à l'aide de pinces fines. Les racines ont ensuite été scannées à 400dpi avec un scanner Epson Expression 10 000XL (Epson, Suwa, Japon). Le logiciel WinRHIZO Reg v.2005c (Regent Instruments, Québec, Canada) a été utilisé pour analyser les images scannées avec les méthodes de Regent et Tennant (Arsenault et al., 1995). La longueur totale racinaire et la surface racinaire projetée ont été déterminés pour chaque système racinaire et utilisées pour calculer le volume racinaire (cm^3), le diamètre racinaire moyen et la distribution de la longueur des racines par classes de diamètre racinaire (10 classes de diamètre racinaire, chacune large de 0,1mm, la dixième pour les racines au diamètre supérieur à 0,9mm).

La masse fraîche racinaire (g) a été déterminée après 24h de réhydratation dans l'eau déminéralisée. Les racines ont été soigneusement séchées au papier filtre avant pesée. Elles ont ensuite été congelées à -80°C , lyophilisées avec un Lyovac GT2 (Steris, Mentor, Etats-Unis) et pesées

pour déterminer leur poids sec (g). Les parties aériennes des plantes ont été séchées 72h à 60°C et pesées pour déterminer leur masse sèche (g).

Tableau 8. Pourcentage des individus dont les feuilles ont été incluses dans le dosage de CNS, par espèce d'adventice et par culture

Espèce	Pourcentage
Adventice	
<i>Alopecurus myosuroides</i>	90%
<i>Bromus mollis</i>	100%
<i>Bromus sterilis</i>	97%
<i>Chenopodium album</i>	42%
<i>Chenopodium polyspermum</i>	15%
<i>Cirsium arvense</i>	93%
<i>Convolvulus arvensis</i>	54%
<i>Echinochloa crus-galli</i>	20%
<i>Elytrigia repens</i>	93%
<i>Galium aparine</i>	63%
<i>Hordeum vulgare</i>	89%
<i>Polygonum lapathifolia</i>	50%
<i>Polygonum persicaria</i>	46%
<i>Solanum nigrum</i>	35%
<i>Sonchus arvensis</i>	68%
<i>Sonchus asper</i>	90%
<i>Sonchus sp</i>	58%
Culture	
Pois	63%
Colza	76%
Blé	52%

Ces données ont été utilisées pour calculer :

-la teneur racinaire en matière sèche (RDMC, Root Dry Matter Content, $\frac{\text{Masse racines sèches}}{\text{Masse racines fraîches}}, \text{ mg g}^{-1}$)

-la fraction massique racinaire (RMF, Root Mass Fraction, $\frac{\text{Masse racines sèches}}{\text{Masse totale plante sèche}}, \text{ g g}^{-1}$)

-la densité de tissus racinaires (RTD, Root Tissue Density, $\frac{\text{Volume racines}}{\text{Masse racines sèches}}, \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$),

-la longueur racinaire spécifique (SRL, Specific Root Length, $\frac{\text{Longueur racines}}{\text{Masse racines sèches}}, \text{ m g}^{-1}$)

-le pourcentage de racines fines, qui a été calculé comme le pourcentage de la longueur racinaire ayant un diamètre inférieur à 0,2 mm (Eissenstat, 1992).

Les racines lyophilisées ont été réduite en poudre avec un broyeur à billes MM 400 (Retsch, Haan, Allemagne) et leur teneur en C et N total a été déterminée grâce à un autoanalyseur élémentaire Flash EA 1112 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Etats-Unis).

La teneur des racines en C et N soluble a été déterminée d'après Nelson et Lym (2003). Un aliquote de 500mg de racines réduites en poudre a été incubé dans 15mL d'eau déminéralisée durant 1h à 60°C puis filtré sur un papier filtre Whatman n° 42. La teneur en C et N des extraits à l'eau chaude a été déterminée en utilisant un TOC-V CSH (Shimadzu, Kyoto, Japon).

4.4 Mesure de la compétition entre adventices et culture

Trois techniques de mesure de la compétition ont été testées dans le cadre de notre expérimentation.

La première approche a consisté à comparer le rendement en grains des cultures dans les zones non traitées et traitées aux herbicides d'une unité expérimentale. Pour cela, 9 quadrats de (0,5 X 0,5m) situés dans les placettes non traitées et dans les zones adjacentes traitées de la parcelle ont été considérés.

La deuxième approche a consisté à mesurer la biomasse d'adventices et de culture dans 9 quadrats de (0,5 X 0,5m). La droite représentant la biomasse d'adventices en fonction de la biomasse de la culture a été tracée et le coefficient directeur de la droite a été considéré comme un indicateur de la compétition entre adventices et culture : plus le coefficient directeur est proche de -1, plus la compétition est importante (Smith et al., 2009).

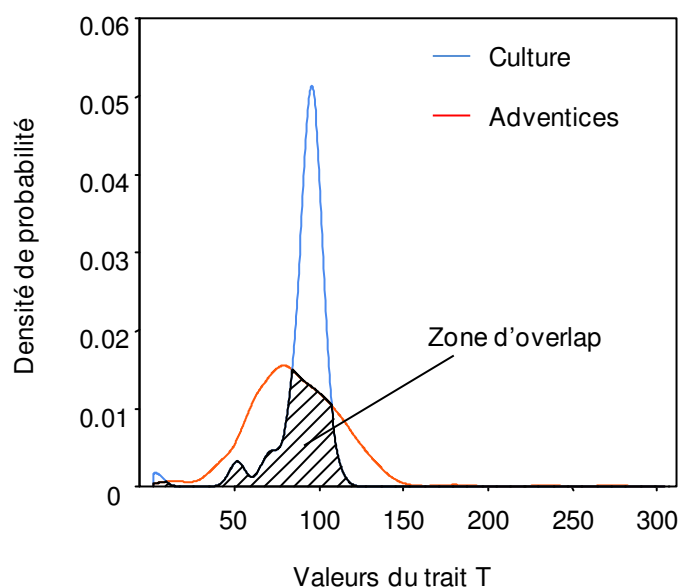


Figure 8. Recouvrement (overlap) entre la distribution des valeurs de traits de la culture et des adventices pour un trait théorique T. Ici, l'overlap est égal à 43% de l'aire de chaque courbe

La troisième approche a consisté à estimer le recouvrement (overlap) des niches écologiques respectives de la culture et des adventices via le recouvrement des valeurs de leurs traits fonctionnels (Rosenfeld, 2002 ; Mouillot et al., 2005 ; McGill et al., 2006 ; Kearney et al., 2010). Le recouvrement des valeurs des traits de la culture avec les valeurs des traits de l'ensemble des individus membres de la communauté d'adventices a été calculé pour chaque trait grâce à la fonction « nicheoverlap » (Mouillot et al., 2005, <http://www.umn-marbec.fr/IMG/txt/nicheoverlap.r-2.txt>). Cette fonction est basée sur la construction de deux courbes de densité de probabilité, une pour la culture et une pour la communauté d'adventices, en utilisant une estimation par noyaux, le long d'un axe représentant les valeurs du trait (Stine et Heyse, 2001 ; Figure 8). L'aire de chaque courbe étant égale à 1, l'aire commune aux deux courbes est ensuite estimée et exprimée en pourcentage de l'aire totale de chaque courbe. Elle représente le recouvrement (overlap) entre les traits de la culture et les traits des adventices. Les approches par recouvrement ont déjà permis de mettre en évidence des phénomènes de différenciation des niches fonctionnelles (« limiting similarity » et « habitat filtering ») dans les communautés prairiales en réponse aux pratiques agricoles (Mason et al., 2011).

5. Données météorologiques

Les données météorologique d'août 2008 à avril 2014 ont été obtenues à partir de la station météorologique INRA de Champenoux (48,751°N, 6,340°E), située à 4 km du site expérimental.

6. Calcul des indices de diversité

Les indices de diversité taxonomique, fonctionnelle et phylogénétique ont été calculés à l'échelle du quadrat en tenant compte de l'ensemble de la communauté d'adventices.

6.1 Indices de diversité taxonomique et phylogénétique

La richesse spécifique des adventices a été calculée comme le nombre d'espèces par quadrat et celles des bactéries a été évaluée grâce à l'indice Chao1 (Chao, 1984) et à l'indice ACE (Chao et Yang, 1993). La diversité spécifique a été calculée avec l'indice de Shannon (Shannon, 1948 ; MacArthur, 1955) et l'indice de Shannon non-paramétrique (Chao et Shen, 2003). La dominance a été calculée avec l'indice de dominance de Simpson (Simpson, 1949). L'équitabilité a été calculée comme le ratio de l'indice de Shannon divisé par l'indice de Shannon maximal possible pour le même nombre d'espèces (Lloyd et Ghelardi, 1964). La diversité phylogénétique (PD) bactérienne a été calculée d'après Faith (1992), comme la longueur totale des branches terminales de l'arbre phylogénétique. Les indices se rapportant aux communautés bactériennes ont été calculés grâce au logiciel Mothur v.1.35.1 (Schloss et al., 2009).

La structure et la composition taxonomique des communautés ont été comparées entre les échantillons en construisant des matrices de distance de Bray-Curtis (structure) et de Jaccard (composition) entre les échantillons à partir des OTU 97% (pour les bactéries) ou des espèces (pour les adventices). Dans le cas des bactéries, la structure et la composition phylogénétique des communautés ont également été comparées en construisant une matrice de distance entre les échantillons à partir des arbres phylogénétiques en utilisant la méthode UniFrac (Lozupone et Knight, 2005), pondérée (structure) et non-pondérée (composition) par l'abondance des séquences.

6.2 Indices de diversité fonctionnelle

La diversité fonctionnelle est théoriquement négativement corrélée à la compétition entre culture et adventices (Smith et al., 2009) et est un indicateur des filtres écologiques s'exerçant sur la communauté d'adventices (Navas et Violle, 2009 ; Pakeman, 2011 ; Gaba et al., 2014). Nous avons considéré quatre composantes de la diversité fonctionnelle : l'identité fonctionnelle, la richesse fonctionnelle, l'équitabilité fonctionnelle et la divergence fonctionnelle (Villegger et al., 2008).

Les indices de diversité fonctionnelle ont été calculés indépendamment pour chaque trait avec une valeur de trait par individu. Dans le cas de valeurs manquantes pour certains individus, par exemple dans le cas des espèces présentant plus de 20 individus par cadrat, les valeurs des traits des autres

individus de la même espèce ont été inclus plus d'une fois dans les calculs afin qu'il y ait autant de valeurs de traits que d'individus de l'espèce présents dans la communauté.

Nous avons calculé l'identité fonctionnelle comme la moyenne des valeurs de traits de la communauté (CWM ; Garnier et al., 2004). La richesse fonctionnelle (FRic) a été calculée comme la différence entre la valeur la plus élevée et la valeur la plus basse du trait dans la communauté (Villegier et al. 2008). L'équitabilité fonctionnelle a été évaluée par l'indice FEve (Villeger et al., 2008), calculée avec R 3.0.0 grâce à la fonction « dbFD » du package « FD 1.0-11 » (Laliberté et Shipley, 2011). La divergence fonctionnelle a été évaluée par l'indice FDvar (Mason et al., 2003), calculé avec le logiciel f-Diversity (Casanoves et al., 2010).

7. Analyses statistiques

La normalité des données a été testée avec le test de Shapiro-Wilk et l'homogénéité des variances avec le test de Bartlett. En raison de l'absence de normalité et/ou d'homogénéité pour la majorité des variables mesurées, seuls des tests non-paramétriques ont été utilisés (test de Friedman, test de Kruskal-Wallis, ANOSIM) au seuil d'erreur 5%. Les relations entre variables ont été représentées en utilisant les analyses multivariées contraintes (RDA) et non contraintes (ACP, NMDS). L'ensemble des analyses a été effectué avec le logiciel R 3.0.0 (R Development Core Team, 2014) et le package Rcmdr (Fox, 2005) à l'exception des analyses effectuées sur les données métagénomiques qui ont été effectuées avec le logiciel Mothur v.1.35.1 (Schloss et al., 2009).

Références bibliographiques

- Arsenault, J.-L., Pouleur, S., Messier, C., Guay, R., 1995. WinRHIZO™, a root-measuring system with a unique overlap correction method. *HortScience* 30, 906.
- Bach, H., Tomanova, J., Schloter, M., Munch, J.C., 2002. Enumeration of total bacteria and bacteria with genes for proteolytic activity in pure cultures and in environmental samples by quantitative PCR mediated amplification. *Journal of Microbiological Methods* 49, 235–245.
- Bonde, T.A., Nielsen, T.H., Miller, M., Sørensen, J., 2001. Arginine ammonification assay as a rapid index of gross N mineralization in agricultural soils. *Biology and Fertility of Soils* 34, 179–184. doi:10.1007/s003740100395
- Brookes, P.C., Kragt, J.F., Powlson, D.S., Jenkinson, D.S., 1985. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen - the effects of fumigation time and temperature. *Soil Biology and Biochemistry* 17, 831–835. doi:10.1016/0038-0717(85)90143-9
- Carrouée, B., Jannot, P., Justes, E., Kouassi, A., Mathys, L., 1999. Fertilisation azotée de trois légumineuses. Le haricot, la luzerne et le pois protéagineux. Comité d'orientation pour des pratiques agricoles respectueuses de l'environnement
- Casanoves, F., Di Rienzo, J.A., Pla, L., 2011. FDiversity: a software package for the integrated analysis of functional diversity. *Methods in Ecology and Evolution* 2, 233–237. doi:10.1111/j.2041-210X.2010.00082.x
- Chao, A., Shen, T.-J., 2003. Nonparametric estimation of Shannon's index of diversity when there are unseen species in ample. *Environmental and Ecological Statistics* 10, 429–443.
- Chao, A., Yang, M.C.K., 1993. Stopping rules and estimation for recapture debugging with unequal failure rates. *Biometrika* 80, 193–201.
- Colbach, N., Dessaint, F., Forcella, F., 2000. Evaluating field-scale sampling methods for the estimation of mean plant densities of weeds. *Weed Research* 40, 411–430.
- Cole, J.R., Wang, Q., Fish, J. a., Chai, B., McGarrell, D.M., Sun, Y., Brown, C.T., Porras-Alfaro, a., Kuske, C.R., Tiedje, J.M., 2014. Ribosomal Database Project: data and tools for high throughput rRNA analysis. *Nucleic Acids Research* 42, D633–D642. doi:10.1093/nar/gkt1244
- Cornelissen, J.H.C., Lavorel, S., Garnier, E., Díaz, S., Buchmann, N., Gurvich, D.E., Reich, P.B., Steege, H., Morgan, H.D., Van Der Heijden, M.G.A., Pausas, J.G., Poorter, H., 2003. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* 51, 335–380.
- Cregut, M., Piutti, S., Vong, P., Slezack-deschaumes, S., Crovisier, I., Benizri, E., 2009. Density, structure, and diversity of the cultivable arylsulfatase-producing bacterial community in the rhizosphere of field-grown rape and barley. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 704–710. doi:10.1016/j.soilbio.2009.01.005
- Den Hollander, N.G., Bastiaans, L., Kropff, M.J., 2007. Clover as a cover crop for weed suppression in an intercropping design. II. Competitive ability of several clover species. *European Journal of Agronomy* 26, 104–112. doi:10.1016/j.eja.2006.08.005
- Deveikyte, I., Semaskiene, R., Leistrumaitė, A., 2008. The competition between cereals and weeds under the conditions of organic agriculture. *Zemdirbyste-Agriculture* 95, 3–15.
- Edgar, R.C., Haas, B.J., Clemente, J.C., Quince, C., Knight, R., 2011. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *BIOINFORMATICS* 27, 2194–2200. doi:10.1093/bioinformatics/btr381
- Eissenstat, D.M., 1992. Costs and benefits of constructing roots of small diameter. *Journal of Plant Nutrition* 15, 763–782. doi:10.1080/01904169209364361
- Eissenstat, D.M., Yanai, R.D., 1997. The ecology of root lifespan. *Advances in Ecological Research* 27, 2-60.
- Evans, J., Sheneman, L., Foster, J., 2006. Relaxed neighbor joining: A fast distance-based phylogenetic tree construction method. *Journal of Molecular Evolution* 62, 785–792. doi:10.1007/s00239-005-0176-2.
- Faith, D.P., 1992. Conservation evaluation and phylogenetic diversity. *Biological Conservation* 61, 1–10. doi:10.1016/0006-3207(92)91201-3.

- Fox, J., 2005. The R Commander: A Basic Statistics Graphical User Interface to R. *Journal of Statistical Software* 14, 1–42.
- Frankenberger, W.T., Johanson, J.B., 1986. Use of plasmolytic agents and antiseptics in soil enzyme assays. *Soil Biology and Biochemistry* 18, 209–213. doi:10.1016/0038-0717(86)90029-5
- Gaba, S., Fried, G., Kazakou, E., Chauvel, B., Navas, M.L., 2014. Agroecological weed control using a functional approach: A review of cropping systems diversity. *Agronomy for Sustainable Development* 34, 103–119. doi:10.1007/s13593-013-0166-5
- Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M.-L., Roumet, C., Debussche, M., Laurent, G., Blanchard, A., Aubry, D., Bellmann, A., Neill, C., Toussaint, J.-P., 2004. Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology* 85, 2630–2637.
- Graaff, M. De, Six, J., Kessel, C. Van, 2007. Elevated CO₂ increases nitrogen rhizodeposition and microbial immobilization of root-derived nitrogen. *New Phytologist* 173, 778–786.
- Grassein, F., Lemauiel-Lavenant, S., Lavorel, S., Bahn, M., Bardgett, R.D., Desclos-Theveniau, M., Laine, P., 2014. Relationships between functional traits and inorganic nitrogen acquisition among eight contrasting European grass species. *Annals of Botany* 115, 107–115. doi:10.1093/aob/mcu233
- Gross, N., Suding, K.N., Lavorel, S., Roumet, C., 2007. Complementarity as a mechanism of coexistence between functional groups of grasses. *Journal of Ecology* 95, 1296–1305. doi:10.1111/j.1365-2745.2007.01303.x
- Gschwendtner, S., Reichmann, M., Müller, M., Radl, V., Munch, J.C., 2010. Abundance of bacterial genes encoding for proteases and chitinases in the rhizosphere of three different potato cultivars. *Biology and Fertility of Soils* 46, 649–652. doi:10.1007/s00374-010-0460-1
- Harper, H.J., 1924. The determination of ammonia in soils. *Soil Science* 18, 409–418.
- Kearney, M., Simpson, S.J., Raubenheimer, D., Helmuth, B., 2010. Modelling the ecological niche from functional traits. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 365, 3469–3483. doi:10.1098/rstb.2010.0034
- Kohler, C., 2011. Évaluation de la diversité taxonomique et fonctionnelle des communautés d’adventices de champs cultivés. Rapport de Master. Université de Strasbourg, Faculté des Sciences de la Vie.
- Ladd, J.N., Butler, J.H.A., 1972. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biology and Biochemistry* 4, 19–30. doi:10.1016/0038-0717(72)90038-7
- Laliberté, E., Shipley, B., 2011. Package “FD”. R package version 1.0-11. <https://cran.r-project.org/package=FD>
- Lloyd, M., Ghelardi, R., 1964. A Table for calculating the equitability component of species diversity. *The Journal of Animal Ecology* 33, 217–225.
- López-Gutiérrez, J.C., Henry, S., Hallet, S., Martin-Laurent, F., Catroux, G., Philippot, L., 2004. Quantification of a novel group of nitrate-reducing bacteria in the environment by real-time PCR. *Journal of Microbiological Methods* 57, 399–407. doi:10.1016/j.mimet.2004.02.009
- Lozupone, C., Knight, R., 2005. UniFrac : A new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 71, 8228–8235. doi:10.1128/AEM.71.12.8228
- MacArthur, R., 1955. Fluctuations of animal populations and a measure of community stability. *Ecology* 36, 533. doi:10.2307/1929601
- Mamarot, J., Rodriguez, A., 2011. Mauvaises herbes des cultures. ACTA-Le réseau des instituts des filières animales et végétales, Paris.
- Mary, B., Recous, S., Darwis, D., Robin, D., 1996. Interactions between decomposition of plant residues and nitrogen cycling in soil. *Plant and Soil* 181, 71–82. doi:10.1007/BF00011294
- Mason, H.E., Navabi, A., Frick, B.L., O’Donovan, J.T., Spaner, D.M., 2007. The weed-competitive ability of Canada western red spring wheat cultivars grown under organic management. *Crop Science* 47, 1167–1176. doi:10.2135/cropsci2006.09.0566

- Mason, N.W.H., Bello, F. De, Dolezal, J., Leps, J., 2011. Niche overlap reveals the effects of competition, disturbance and contrasting assembly processes in experimental grassland communities. *Journal of Ecology* 99, 788–796. doi:10.1111/j.1365-2745.2011.01801.x
- Mason, W.H.N., MacGillivray, K., Steel, J.B., Wilson, J.B., 2003. An index of functional diversity. *Journal of Vegetation Science* 14, 571–578. doi:10.1111/j.1654-1103.2003.tb02184.x
- McGill, B.J., Enquist, B.J., Weiher, E., Westoby, M., 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology and Evolution* 21, 178–185. doi:10.1016/j.tree.2006.02.002
- Mohammadi, G.R., 2007. Growth parameters enhancing the competitive ability of corn (*Zea mays* L.) against weeds. *Weed Biology and Management* 7, 232–236. doi:10.1111/j.1445-6664.2007.00261.x
- Mommer, L., Visser, E.J.W., Ruijven, J. Van, Caluwe, H. De, Pierik, R., Kroon, H. De, 2011. Contrasting root behaviour in two grass species: a test of functionality in dynamic heterogeneous conditions. *Plant Soil* 344, 347–360. doi:10.1007/s11104-011-0752-8
- Mouillot, D., Stubbs, W., Faure, M., Dumay, O., Tomasini, J.A., Wilson, J.B., Chi, T. Do, 2005. Niche overlap estimates based on quantitative functional traits: a new family of non-parametric indices. *Oecologia* 145, 345–353. doi:10.1007/s00442-005-0151-z
- Moukoubi, Y.D., Sie, M., Vodouhe, R., Bonou, W., Toulou, B., Ahanchede, A., 2011. Screening of rice varieties for their weed competitiveness. *African Journal of Agriculture Research* 6, 5446–5456.
- Nelson, J.A., Lym, R.G., 2003. Interactive effects of *Aphthona nigriscutis* and picloram plus 2,4-D in leafy spurge (*Euphorbia esula*). *Weed Science* 51, 118–124. doi:10.1614/0043-1745(2003)051[0118:IEOANA]2.0.CO;2
- Pakeman, R.J., 2011. Functional diversity indices reveal the impacts of land use intensification on plant community assembly. *Journal of Ecology* 99, 1143–1151. doi:10.1111/j.1365-2745.2011.01853.x
- Parelle, J., Roudaut, J.-P., Ducrey, M., 2006. Light acclimation and photosynthetic response of beech (*Fagus sylvatica* L.) sapling under artificial shading or natural Mediterranean conditions. *Annals of Forest Science* 63, 257–266. doi:10.1051/forest
- Pérez-ramos, I.M., Roumet, C., Cruz, P., Blanchard, A., Autran, P., Garnier, E., 2012. Evidence for a “plant community economics spectrum” driven by nutrient and water limitations in a Mediterranean rangeland of southern France. *Journal of Ecology* 100, 1315–1327. doi:10.1111/1365-2745.12000
- Prévost-Bourré, N.C., Christen, R., Dequiedt, S., Mougél, C., Lelivre, M., Jolivet, C., Shahbazkia, H.R., Guillou, L., Arrouays, D., Ranjard, L., 2011. Validation and application of a PCR Primer Set to quantify fungal communities in the soil environment by real-time quantitative PCR. *PLoS ONE* 6, 1–13. doi:10.1371/journal.pone.0024166
- Pruesse, E., Quast, C., Knittel, K., Fuchs, B.M., Ludwig, W., Peplies, J., Glöckner, F.O., 2007. SILVA: A comprehensive online resource for quality checked and aligned ribosomal RNA sequence data compatible with ARB. *Nucleic Acids Research* 35, 7188–7196. doi:10.1093/nar/gkm864
- Ramesh, G., 2006. Relationship between different forms of soil sulphur and leaf sulphur contents and yield of groundnut. *Indian Journal of Dryland Agricultural Research and Development* 21, 27–30.
- R Core Team, 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>
- Recous, S., Robin, D., Darwis, D., Mary, B., 1995. Soil inorganic N availability: Effect on maize residue decomposition. *Soil Biology and Biochemistry* 27, 1529–1538. doi:10.1016/0038-0717(95)00096-W
- Reich, P.B., Walters, M.B., Tjoelker, M.G., Vanderklein, D., Buschena, C., 1998. Photosynthesis and respiration rates depend on leaf and root morphology and nitrogen concentration in nine boreal tree species differing in relative growth rate. *Functional Ecology* 12, 395–405. doi:10.1046/j.1365-2435.1998.00209.x
- Rew, L.J., Cousens, R.D., 2001. Spatial distribution of weeds in arable crops: are current sampling and analytical methods appropriate? *Weed Research* 41, 1–18.
- Robinson, B.Y.D., Linehan, D.J., Gordon, D.D.C., 1994. Capture of nitrate from soil by wheat in relation to root length, nitrogen inflow and availability. *New Phytologist* 128, 297–305.

- Römer, W., Augustin, J., Schilling, G., 1988. The relationship between phosphate absorption and root length in nine wheat cultivars. *Plant and Soil* 201, 199–201.
- Rosenfeld, J.S., 2002. Functional redundancy in ecology and conservation. *Oikos* 98, 156–162.
- Roumet, C., Lafont, F., Sari, M., Warembourg, F., Garnier, E., 2008. Root traits and taxonomic affiliation of nine herbaceous species grown in glasshouse conditions. *Plant and Soil* 312, 69–83. doi:10.1007/s11104-008-9635-z
- Ryser, P., 2006. The mysterious root length. *Plant Soil* 286, 1–6. doi:10.1007/s11104-006-9096-1
- Schädler, M., Jung, G., Auge, H., Brandl, R., 2003. Palatability, decomposition and insect herbivory: patterns in a successional old-field plant community. *Oikos* 103, 121–132. doi:10.1034/j.1600-0706.2003.12659.x
- Shannon, C.E., 1948. A mathematical theory of communication. *The Bell System Technical Journal* 27, 379–423, 623–656.
- Schloss, P.D., Gevers, D., Westcott, S.L., 2011. Reducing the effects of PCR amplification and sequencing Artifacts on 16s rRNA-based studies. *PLoS ONE* 6. doi:10.1371/journal.pone.0027310
- Schloss, P.D., Westcott, S.L., Ryabin, T., Hall, J.R., Hartmann, M., Hollister, E.B., Lesniewski, R. a., Oakley, B.B., Parks, D.H., Robinson, C.J., Sahl, J.W., Stres, B., Thallinger, G.G., Van Horn, D.J., Weber, C.F., 2009. Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 75, 7537–7541. doi:10.1128/AEM.01541-09
- Simpson, E.H., 1949. Measurement of diversity. *Nature* 163, 688.
- Singh, V., Singh, H., 2012. Leaf construction cost and related ecophysiological parameters of rice crop and its important weeds. *Rice Science* 19, 233–240. doi:10.1016/S1672-6308(12)60045-6
- Smith, R.G., Mortensen, D.A., Ryan, M.R., 2009. A new hypothesis for the functional role of diversity in mediating resource pools and weed – crop competition in agroecosystems. *Weed Research* 50, 37–48. doi:10.1111/j.1365-3180.2009.00745.x
- Stine, R. a., Heyse, J.F., 2001. Non-parametric estimates of overlap. *Statistics in Medicine* 20, 215–236. doi:10.1002/1097-0258(20010130)20:2<215::AID-SIM642>3.0.CO;2-X
- Storkey, J., 2005. Modelling assimilation rates of 14 temperate arable weed species as a function of the environment and leaf traits. *Weed Research* 45, 361–370. doi:10.1111/j.1365-3180.2005.00466.x
- Tabatabai, M.A., Bremner, J.M., 1970. Arylsulfatase activity of soils. *Soil Science Society of America Journal* 34, 225–229.
- Tjoelker, M.G., Craine, J.M., Wedin, D., Reich, P.B., Tilman, D., 2005. Linking leaf and root trait syndromes among 39 grassland and savannah species. *New Phytologist* 167, 493–508. doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01428.x
- Tribouillois, H., Florian, F., Cruz, P., Charles, R., Flores, O., Garnier, E., Justes, E., 2015. A functional characterisation of a wide range of cover crop species: growth and nitrogen acquisition rates, leaf traits and ecological strategies. *Plos ONE* 1–17. doi:10.1371/journal.pone.0122156
- Vance, E.D., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass-C. *Soil Biology and Biochemistry* 19, 703–707. doi:10.1016/0038-0717(87)90052-6
- Villéger, S., Mason, N.W.H., Mouillot, D., 2008. New multidimensional functional diversity indices for a multifaceted framework in functional ecology. *Ecology* 89, 2290–2301.
- Violle, C., Garnier, E., Lecoœur, J., Roumet, C., Pothier, C., Blanchard, A., Navas, M.-L., 2009. Competition, traits and resource depletion in plant communities. *Oecologia* 160, 747–755. doi:10.1007/s00442-009-1333-x
- Vong, P., Piutti, S., Slezacek-deschaumes, S., Benizri, E., Robin, C., Guckert, A., 2007. Water-soluble carbon in roots of rape and barley : impacts on labile soil organic carbon, arylsulphatase activity and sulphur mineralization. *Plant and Soil* 294, 19–29. doi:10.1007/s11104-007-9201-0
- Walker, A.P., Beckerman, A.P., Gu, L., Kattge, J., Cernusak, L. a., Domingues, T.F., Scales, J.C., Wohlfahrt, G., Wullschlegel, S.D., Woodward, F.I., 2014. The relationship of leaf photosynthetic traits - V_{cmax} and J

max - to leaf nitrogen, leaf phosphorus, and specific leaf area: a meta-analysis and modeling study. *Ecology and Evolution* 4, 3218–3235. doi:10.1002/ece3.1173

Walker, D.R., Doornenbal, G., 1972. Soil Sulfate II. As an index of the sulfur available to legumes. *Canadian Journal of Soil Science* 52, 261–266.

Wang, Q., Garrity, G.M., Tiedje, J.M., Cole, J.R., 2007. Naive Bayesian Classifier for Rapid Assignment of rRNA Sequences into the New Bacterial Taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology* 73, 5261–5267. doi:10.1128/AEM.00062-07

Yates, F., 1954. The analysis of experiments containing different crop rotations. *Biometrics* 10, 324–346.

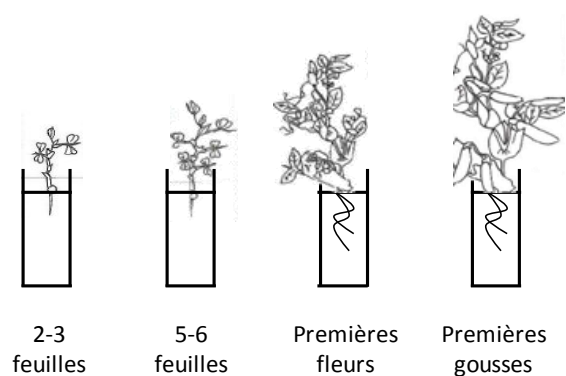
Chapitre 3. Effet du pois et du blé en conditions contrôlées sur certaines communautés microbiennes impliquées dans le cycle de l'azote

Introduction

Les plantes cultivées influencent la minéralisation de l'azote dans le sol (Van der Krift et Berendse, 2001 ; Parkin et al., 2002 ; Gan et al., 2010). En effet, au cours de leur croissance, les plantes modifient la disponibilité en carbone et en azote dans le sol *via* le processus de rhizodéposition (exsudation de N minéral et de molécules organiques solubles, production de litière racinaire) et le prélèvement de N minéral (Jensen, 1996c ; Wichern et al., 2008 ; Bell et al., 2015). De plus, les plantes restituent après la fin du cycle de culture des résidus végétaux qui constituent de la matière organique fraîche (Jensen, 1997 ; Trinsoutrot et al., 2000 ; Chen et al., 2014). Ainsi, en modifiant la disponibilité relative en C et N dans le sol, les plantes vont influencer la taille et les activités des communautés microbiennes du sol dont les activités impliquées dans la décomposition-minéralisation de N (Kuzyakov et Bol, 2006, Dijkstra et al., 2013, Bell et al., 2015). Ces effets pourront conduire soit à des phénomènes d'immobilisation nette ou de minéralisation nette de N et moduleront donc ainsi la biodisponibilité en N pour les plantes.

Concernant le cas des Légumineuses telles que le pois, il est généralement admis que ces cultures, en plus de leur capacité à fixer le N atmosphérique, ont un effet positif sur la minéralisation nette de N au cours de leur croissance. Ceci permet ainsi d'augmenter la teneur en azote minéral du sol pour la culture qui leur succède (Gan et al., 2010 ; Jensen, 1996a ; Maidl et al., 1996). De plus, les résidus de Légumineuses influencent positivement la minéralisation nette de N et peuvent contribuer à augmenter la disponibilité en N minéral pour la culture en place (Jensen, 1997 ; Soon et Arshad, 2002 ; Engstrom et Linden, 2012). Les effets positifs des Légumineuses sur la minéralisation nette de N pourraient résulter de la qualité de leur rhizodépôts (avec de C/N autour de 17 ; Wichern et al., 2007a,b) et de leurs résidus (C/N moyen de 44 pour les résidus aériens (Soon et Arshad, 2002 ; Lupwayi et al., 2006 ; Kumar et Goh, 2002 ; Gan et al., 2011 ; Engstrom et Linden, 2012 ; Jensen, 1996b, 1997 ; Arcand et al., 2014). Ces C/N relativement bas sont susceptibles de modifier les activités protéase et d'ammonification (Biederbeck et al., 2005 ; Piotrowska-Długosz et Wilczewski, 2014) qui réalisent deux étapes importantes de la minéralisation : l'activité protéase est considérée comme l'activité limitant la minéralisation de l'azote (Jan et al., 2009) et l'activité d'ammonification est responsable de la dernière étape de minéralisation de l'azote (Geisseler et al., 2010).

Expérimentation 1



Expérimentation 2

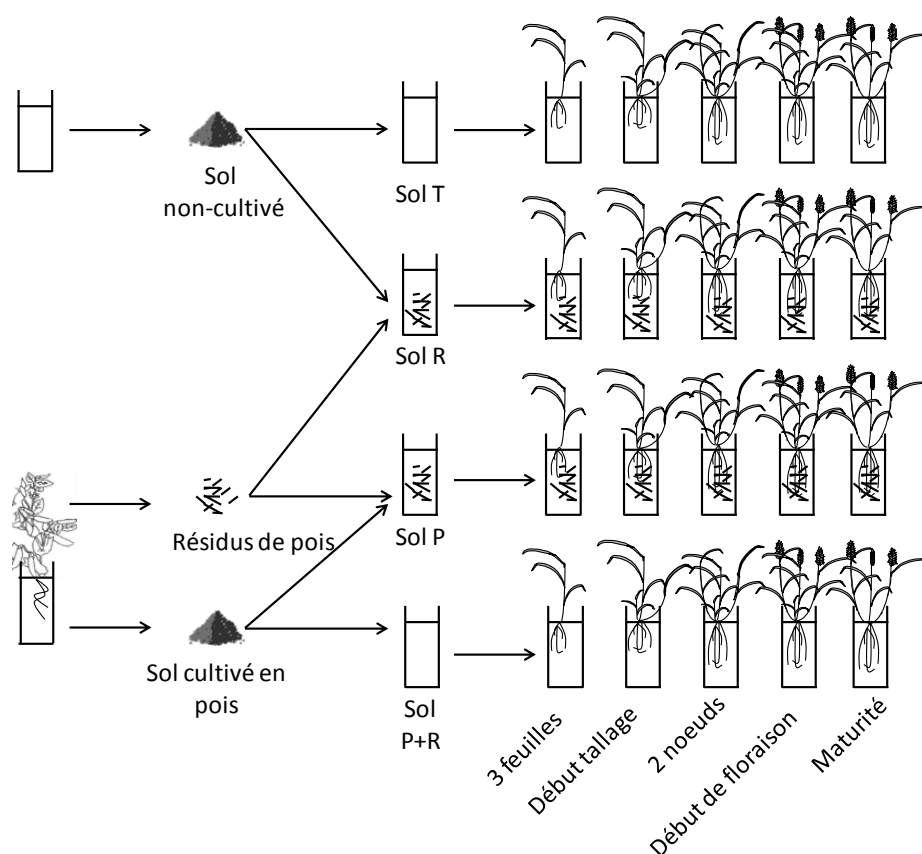


Figure 1. Schéma du dispositif expérimental en conditions contrôlées. Expérimentation 1 : culture du pois. Expérimentation 2 : culture du blé dans quatre sols différents

Même si l'effet des plantes sur la minéralisation de N et sur certaines des activités enzymatiques impliquées dans la minéralisation de N a été décrit (Carpenter-Boggs et al., 2000 ; Dinesh et al., 2004 ;

Sakurai et al., 2007 ; Ordonez et al., 2009 ; Churka Blum et al., 2013), les mécanismes fins par lesquels les plantes, au cours de leur croissance, influencent ces activités microbiennes restent mal caractérisés (Cheng, 2009 ; Gan et al., 2010 ; Bell et al., 2015). La mesure des traits fonctionnels est une approche qui s'est révélée fructueuse pour comprendre comment les plantes modifient les processus écosystémiques (Cadotte et al., 2011 ; Garnier et Navas, 2012 ; Bardgett et al., 2014). Bien que les traits fonctionnels racinaires soient sous-étudiés comparativement aux traits fonctionnels aériens, l'analyse de ces traits offre une l'opportunité de comprendre plus finement les interactions entre le développement du système racinaire, les communautés microbiennes et les processus de minéralisation de N, dans la mesure où les racines constituent les organes par lesquels les flux de N et C s'effectuent entre la plante et le sol (Pérez-Harguindeguy et al., 2013).

Afin de mieux comprendre quels traits racinaires du pois et du blé influencent la taille des communautés microbiennes et les activités impliquées dans la décomposition et la minéralisation de N, des expérimentations en conditions contrôlées ont été mises en place (Figure 1). Dans une première expérimentation, nous avons analysé les relations entre les traits fonctionnels racinaires du pois au cours de son développement et les activités protéase et d'ammonification. Dans une seconde expérimentation, nous avons étudié, grâce à la mesure des traits fonctionnels racinaires, comment le blé influence au cours de son développement la biomasse microbienne et les activités protéases dans des sols amendés avec deux types de résidus de pois *i.e.* des litières racinaires et aériennes ou des rhizodépôts. A différents stades de développement (stades végétatifs et reproducteurs) du pois et du blé, des plantes ont été prélevées et des traits fonctionnels racinaires liés à la rhizodéposition et au prélèvement de nutriments ont été mesurés. Des mesures de disponibilité en C et N dans le sol, d'abondance microbienne (abondance de gènes ADNr 16S et *apr*, abondance microbienne C et N) et d'activité protéase et d'ammonification ont également été effectuées.

Les résultats et conclusions de ces travaux font l'objet d'un premier article accepté dans la revue *Soil Biology and Biochemistry* (Romillac et al., 2015) et d'un second article actuellement en préparation pour la revue *Pedobiologia*.

Références

- Arcand, M.M., Knight, J.D., Farrell, R.E., 2014. Differentiating between the supply of N to wheat from above and belowground residues of preceding crops of pea and canola. *Biology and Fertility of Soils* 50, 563–570. doi:10.1007/s00374-013-0877-4

-
- Bardgett, R.D., Mommer, L., De Vries, F.T., 2014. Going underground: Root traits as drivers of ecosystem processes. *Trends in Ecology and Evolution* 29, 692–699. doi:10.1016/j.tree.2014.10.006
- Bell, C.W., Asao, S., Calderon, F., Wolk, B., Wallenstein, M.D., 2015. Plant nitrogen uptake drives rhizosphere bacterial community assembly during plant growth. *Soil Biology and Biochemistry* 85, 170–182. doi:10.1016/j.soilbio.2015.03.006
- Biederbeck, V.O., Zentner, R.P., Campbell, C.A., 2005. Soil microbial populations and activities as influenced by legume green fallow in a semiarid climate. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 1775–1784. doi:10.1016/j.soilbio.2005.02.011
- Cadotte, M.W., Carscadden, K., Mirotchnick, N., 2011. Beyond species: Functional diversity and the maintenance of ecological processes and services. *Journal of Applied Ecology* 48, 1079–1087. doi:10.1111/j.1365-2664.2011.02048.x
- Carpenter-Boggs, L., Pikul, J.L.J., Vigil, M.F., Riedell, W.E., 2000. Soil nitrogen mineralization influenced by crop rotation and nitrogen fertilization. *Soil Science Society Of America Journal* 64, 2038–2045.
- Chen, B., Liu, E., Tian, Q., Yan, C., Zhang, Y., 2014. Soil nitrogen dynamics and crop residues. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 34, 429–442. doi:10.1007/s13593-014-0207-8
- Cheng, W., 2009. Rhizosphere priming effect : Its functional relationships with microbial turnover , evapotranspiration , and C – N budgets. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 1795–1801. doi:10.1016/j.soilbio.2008.04.018
- Churka Blum, S., Lehmann, J., Solomon, D., Caires, E.F., Alleoni, L.R.F., 2013. Sulfur forms in organic substrates affecting S mineralization in soil. *Geoderma* 200–201, 156–164. doi:10.1016/j.geoderma.2013.02.003
- Dijkstra, F. a., Carrillo, Y., Pendall, E., Morgan, J. a., 2013. Rhizosphere priming: A nutrient perspective. *Frontiers in Microbiology* 4, 1–8. doi:10.3389/fmicb.2013.00216
- Dinesh, R., Suryanarayana, M.A., Chaudhuri, S.G., Sheeja, T.E., 2004. Long-term influence of leguminous cover crops on the biochemical properties of a sandy clay loam Fluventic Sulfaquent in a humid tropical region of India. *Soil and Tillage Research* 77, 69–77. doi:10.1016/j.still.2003.11.001
- Engström, L., Lindén, B., 2012. Temporal course of net N mineralization and immobilization in topsoil following incorporation of crop residues of winter oilseed rape, peas and oats in a northern climate. *Soil Use and Management* 28, 436–447. doi:10.1111/sum.12004
- Gan, Y., Campbell, C. a., Janzen, H.H., Lemke, R.L., Basnyat, P., McDonald, C.L., 2010. Nitrogen accumulation in plant tissues and roots and N mineralization under oilseeds, pulses, and spring wheat. *Plant and Soil* 332, 451–461. doi:10.1007/s11104-010-0312-7
- Gan, Y.T.A., Liang, B.C.B., Liu, L.P.C., Wang, X.Y.A., McDonald, C.L.A., 2011. C:N ratios and carbon distribution profile across rooting zones in oilseed and pulse crops. *Crop and Pasture Science* 62, 496–503.
- Garnier, E., Navas, M., 2012. A trait-based approach to comparative functional plant ecology: concepts, methods and applications for agroecology. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 32, 365–399. doi:10.1007/s13593-011-0036-y
- Geisseler, D., Horwath, W.R., Joergensen, R.G., Ludwig, B., 2010. Pathways of nitrogen utilization by soil microorganisms - A review. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 2058–2067. doi:10.1016/j.soilbio.2010.08.021
- Jan, M.T., Roberts, P., Tonheim, S.K., Jones, D.L., 2009. Protein breakdown represents a major bottleneck in nitrogen cycling in grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 2272–2282. doi:10.1016/j.soilbio.2009.08.013
- Jensen, E.S., 1997. Nitrogen immobilization and mineralization during initial decomposition of ¹⁵N-labelled pea and barley residues. *Biology and Fertility of Soils* 24, 39–44.
- Jensen, E.S., 1996a. Nitrogen acquisition by pea and barley and the effect of their crop residues on available nitrogen for subsequent crops. *Biology and Fertility of Soils* 23, 459–464. doi:10.1007/BF00335923
- Jensen, E.S., 1996b. Compared cycling in a soil-plant system of pea and barley residue nitrogen. *Plant and Soil* 182, 13–23.

- Jensen, E.S., 1996c. Rhizodeposition of N by pea and barley and its effect on soil N dynamics. *Soil Biology and Biochemistry* 28, 65–71.
- Kumar, K., Goh, K.M., 2002. Management practices of antecedent leguminous and non-leguminous crop residues in relation to winter wheat yields, nitrogen uptake, soil nitrogen mineralization and simple nitrogen balance. *European Journal of Agronomy* 16, 295–308.
- Kuzyakov, Y., Bol, R., 2006. Sources and mechanisms of priming effect induced in two grassland soils amended with slurry and sugar. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 747–758. doi:10.1016/j.soilbio.2005.06.025
- Lupwayi, N.Z., Clayton, G.W., O'Donovan, J.T., Harker, K.N., Turkington, T.K., Soon, Y.K., 2006. Nitrogen release during decomposition of crop residues under conventional and zero tillage. *Canadian Journal of Soil Science* 86, 11–19. doi:10.1016/j.still.2007.01.007
- Maidl, F.X., Haunz, F.X., Panse, A., Fischbeck, G., 1996. Transfer of grain legume nitrogen within a crop rotation containing winter wheat and winter barley. *Journal of Agronomy and Crop Science* 176, 47–57. doi:10.1111/j.1439-037X.1996.tb00445.x
- Ordoñez, J.C., van Bodegom, P.M., Witte, J.-P.M., Wright, I.J., Reich, P.B., Aerts, R., 2009. A global study of relationships between leaf traits, climate and soil measures of nutrient fertility. *Global Ecology and Biogeography* 18, 137–149. doi:10.1111/j.1466-8238.2008.00441.x
- Parkin, T.B., Kaspar, T.C., Cambardella, C., 2002. Oat plant effects on net nitrogen mineralization. *Plant and Soil* 243, 187–195. doi:10.1023/A:1019949727575
- Perez-Harguindeguy, N., Diaz, S., Garnier, E., Lavorel, S., Poorter, H., Jaureguiberry, P., Bret-Harte, M., Corns, W., Craine, J., Gurvich, D., Urcelay, C., Veneklaas, E., Reich, P., Poorter, L., Wright, I., Ray, P., Enrico, L., Pausas, J., Vos, A. de, Buchmann, N., Quetier, F., Hodgson, J., Morgan, H., Steege, H. ter, Heijden, M. van der, Reckenholz, T., Sack, L., Blonder, B., Poschold, P., Vaieretti, M., Conti, G., Staver, A., Aquino, S., Cornelissen, J., 2013. New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* 61, 167–234.
- Piotrowska-Długosz, A., Wilczewski, E., 2014. Assessment of soil nitrogen and related enzymes as influenced by the incorporation time of field pea cultivated as a catch crop in Alfisol. *Environmental Monitoring and Assessment* 186, 8425–8441. doi:10.1007/s10661-014-4014-0
- Romillac, N., Piutti, S., Amiaud, B., Slezacek-Deschaumes, S., 2015. Influence of pea root traits modulating soil bioavailable C and N effects upon ammonification activity. *Soil Biology and Biochemistry* 90, 148–151.
- Sakurai, M., Suzuki, K., Onodera, M., Shinano, T., Osaki, M., 2007. Analysis of bacterial communities in soil by PCR – DGGE targeting protease genes. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2777–2784. doi:10.1016/j.soilbio.2007.05.026
- Soon, Y.K., Arshad, M.A., 2002. Comparison of the decomposition and N and P mineralization of canola, pea and wheat residues. *Biology and Fertility of Soils* 36, 10–17. doi:10.1007/s00374-002-0518-9
- Trinsoutrot, I., Recous, S., Mary, B., Nicolardot, B., 2000. C and N fluxes of decomposing ¹³C and ¹⁵N *Brassica napus* L.: effects of residue composition and N content. *Soil Biology and Biochemistry* 32, 1717–1730. doi:10.1016/S0038-0717(00)00090-0
- Van der Krift, T. a. J., Berendse, F., 2001. The effect of plant species on soil nitrogen mineralization. *Journal of Ecology* 89, 555–561. doi:10.1046/j.0022-0477.2001.00580.x
- Wichern, F., Eberhardt, E., Mayer, J., Joergensen, R.G., Müller, T., 2008. Nitrogen rhizodeposition in agricultural crops: Methods, estimates and future prospects. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 30–48. doi:10.1016/j.soilbio.2007.08.010
- Wichern, F., Mayer, J., Georg, R., Müller, T., 2007a. Rhizodeposition of C and N in peas and oats after ¹³C – ¹⁵N double labelling under field conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2527–2537. doi:10.1016/j.soilbio.2007.04.022
- Wichern, F., Mayer, J., Joergensen, R.G., Müller, T., 2007b. Release of C and N from roots of peas and oats and their availability to soil microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2829–2839. doi:10.1016/j.soilbio.2007.06.006

Influence of root traits modulating soil bioavailable C and N on ammonification activity along pea development

Nicolas Romillac^{a,b}, Séverine Piutti^{a,b}, Bernard Amiaud^{c,d}, Sophie Slezack-Deschaumes^{a,b}

^a Université de Lorraine, Laboratoire Agronomie et Environnement, UMR 1121, TSA 40602, F-54518 Vandœuvre cedex, France

^b INRA, Laboratoire Agronomie et Environnement, UMR 1121, TSA 40602, F-54518 Vandœuvre cedex, France

^c Université de Lorraine, UMR 1137, Ecologie et Ecophysiologie Forestière, F-54500 Vandœuvre lès Nancy, France

^d INRA, UMR 1137, Ecologie et Ecophysiologie Forestière, F-54280 Champenoux, France

Publié dans **Soil Biology and Biochemistry (2015), 90, 148-151**

Abstract

Plant functional traits are useful tools for understanding plant impacts on soil nitrogen (N) mineralization. The objective of this study was to examine the root traits that govern the influence of *Pisum sativum* L. on potential protease and ammonification activities, which are two key microbial activities involved in N mineralization. Ammonification activity was greater during pea reproductive than vegetative stages, whereas potential protease activity did not vary along pea development. Ammonification activity was more strongly affected by root architecture traits (total root length and percentage of fine roots) than by root growth traits (root dry matter content). Pea root traits appear to affect ammonification activity in a complex manner involving variations in rhizodeposition that modulate carbon and N availability for soil microorganisms.

Keywords: *Pisum sativum*, ammonification activity, protease activity, root traits

Plants influence soil nitrogen (N) mineralization during their growth by controlling N uptake as well as the release of carbon (C) and N rhizodeposits to the soil (Laungani and Knops, 2012; van der Krift and Berendse, 2001). These rhizodeposits can be used as an energy source by soil microorganisms to produce enzymes implicated in soil organic N degradation, including protease and ammonification activities (Bardgett et al., 2014; Dijkstra et al., 2013). The subsequent increase in soil N mineralization may therefore have a positive effect on the resulting soil N availability. However, the release of these rhizodeposits may also improve net N immobilization, thus decreasing soil N availability (Dijkstra et al., 2013; Orwin et al., 2010). Therefore, identifying the mechanisms by which plants modify the microbial activities involved in N mineralization is important for better predicting how plant species alter soil N availability. Plant trait-based approaches may be helpful for understanding such mechanisms (Powell et al., 2013). In particular, the analysis of root traits may be a critical tool because roots are the key organs that drive nutrient acquisition, nutrient cycling and rhizodeposition (Bardgett et al., 2014; York et al., 2013).

The aim of our study was to identify the root traits that govern the potential influence of pea (*Pisum sativum* L.) on soil potential protease and ammonification activities. Pea was chosen because compared with other crops, this plant species releases readily mineralizable N and

easily metabolizable C rhizodeposits that are assumed to have a positive effect on soil N mineralization (Evans et al., 1996; Mayer et al., 2003; Wichern et al., 2007a, 2007b). Therefore, according to the “economic rules” regulating microbial enzyme production (Allison and Vitousek, 2005), the elevated assimilable N resources in pea rhizodeposits would not require that microorganisms produce proteolytic enzymes to decompose proteinaceous organic N from soil organic matter. As opposed to vegetative stages, during pea reproductive stages, the relative excess in N (*i.e.*, amino acids) rather than C in the rhizodeposits would promote mineralization of amino acids via ammonification activities for their C content rather than their N (Farrell et al., 2013, 2014). Thus, we hypothesized that root traits modulating N rhizodeposition processes (Roumet et al., 2008) and soil C availability more strongly influence potential protease and ammonification activities than do traits related to root growth.

A spring pea cultivar (*P. sativum* L., cv. Kayanne) was grown under controlled conditions (supplementary information). Soil and roots were sampled ($n=4$) at two vegetative (3-leaf and 5-leaf) and two reproductive (first flowers and early seed filling) stages. The dry masses of roots and aerial parts were measured. Root morphology was analyzed by digital scanning using WinRHIZO (Arsenault et al., 1995). Four root architecture traits related to N interception and rhizodeposition were determined: total root length, specific root length (SRL), fine root length percentage and root mean diameter. In addition, seven root growth traits were estimated: root dry matter content (RDMC), root mass fraction (RMF), root tissue density (RTD), total root C and N contents, and water-soluble root C and N contents. We determined the following soil characteristics: the total mineral N content in 2 M KCl extracts, soil N (HW-N) and C (HW-C) contents in hot water extracts, the microbial biomass C (MBC) and N (MBN), and the abundances of the total bacterial and protease communities using quantitative PCR and ammonification and protease activities. Analyses were conducted using standard methods, which are outlined in the supplementary information. Redundancy analyses (RDA) were performed to assess the relationship between protease and ammonification activities, and three sets of the most significant (after forward selection, Legendre and Legendre, 1998) explanatory variables, *i.e.*, root architecture traits, root growth traits and soil variables. Then, variation partitioning was performed to quantify the relative contributions of the most significant explanatory variables to the variations in ammonification and protease activities (Peres-Neto et al., 2006). These analyses were performed using the vegan 2.0-9 package (Oksanen, 2013) of R 3.0.0 (R Core Team, 2013).

The results showed potential protease activity did not change during pea development. It should be underlined that protease activities have been estimated by using the conventional method described by Ladd and Butler (1972), reflecting more potential activities rather than native activities. We cannot exclude that the use of isotope pool dilution techniques to determine native gross protein depolymerisation, such as those developed by Wanek et al. (2010), would have influenced the results. In contrast to protease activity, ammonification activity evolved as a function of pea phenology, with a significant increase at the beginning of seed filling ($H' = 9.5$, $p < 0.05$, supplementary information, Table 1). During pea reproductive stages, changes in ammonification activity may be associated with an increase in the C-to-N ratio of pea rhizodeposits that would favor C limitations for soil microorganisms (Kopacek et al., 2013). Mineralization of excess amino acids in pea rhizodeposits could then alleviate such soil C limitations (Jensen, 1996; Farrell et al., 2014). The significant decrease in soil HW-C/N ($H' = 12.90$, $p < 0.01$, supplementary information, Table 1) between the 5-leaf and flowering pea stages supports these findings. This statement is also reinforced by our observation of a significant negative correlation between ammonification activity and HW-C ($r = -0.73$, $p < 0.01$).

Based on RDA analyses (Fig. 1 and 2), no root trait was associated with potential protease activity, likely because this activity did not change during pea development. By contrast, several root traits that varied throughout pea development (supplementary information, Table 1) significantly influenced ammonification activity. The RDMC and covarying total root length and percentage of fine roots showed direct influences on ammonification activity (Fig. 1), whereas the RMF and percentage of fine roots influenced this microbial activity through their impact on soil HW-C (Fig. 2). Using variation partitioning, we show that a combination of these roots traits and HW-C explained 53% of the variation in ammonification activity. Plant root traits contributed to 30% of the variation in soil enzyme activities. We observed that RDMC contributed to only 9% of the variation in ammonification activity, although this root growth trait was positively correlated with ammonification activity ($r = 0.86$, $p < 0.001$). By contrast, the percentage of fine roots that was positively correlated with ammonification activity ($r = 0.74$, $p < 0.01$) contributed to 21% of the variation in this microbial activity. Finally, we show that if soil HW-C alone does not explain the variation in ammonification activity, this soil variable is positively influenced by the RMF ($r = 0.95$, $p < 0.001$), which is an indicator of the relative allocation of C to the roots (Poorter et al., 2012). In this case,

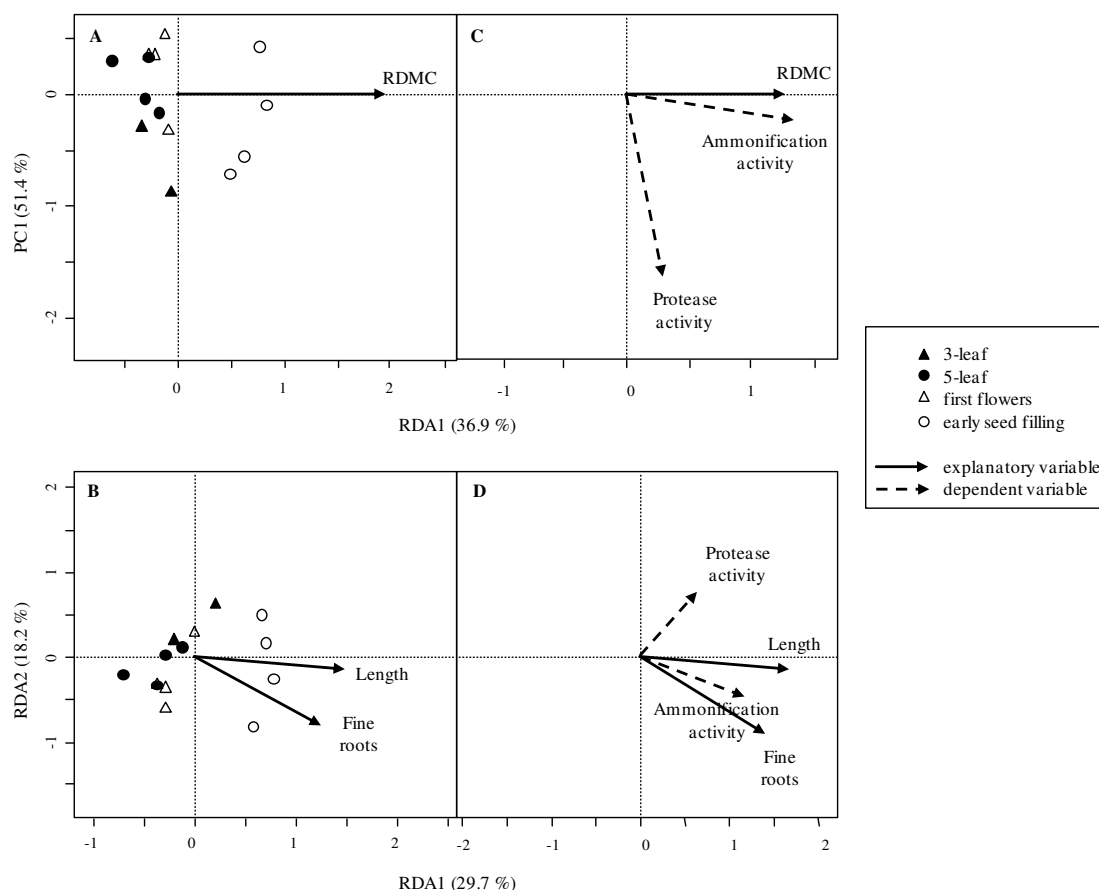


Fig. 1 Redundancy analysis of enzymatic activities in relation to the root growth related traits (A and C) and root architecture related traits (B and D). In RDA distance biplots (A and B), phenological stages are denoted for: 3-leaf with filled triangle (▲); 5-leaf with filled circle (●); first flowers with empty triangle (△); early seed filling with empty circles (○). In correlation biplots (C and D), solid lines are roots traits (explanatory variables), dashed lines are enzymatic activities (dependent variables). When only one explanatory variable was selected, RDA is constructed with only one constrained ordination axis (RDA 1), the second axis being an unconstrained residual axis (PC 1). The RDAs were significant at $P < 0.01$ and explained 32 % (A and C) and 38 % (B and D) of the variation

according to our hypothesis, the variation in ammonification activity is likely to be controlled primarily by root architecture traits that modulate the soil bioavailable C and N and secondarily by root growth traits. These results suggest that changes in pea biomass partitioning during reproductive stages could limit belowground C allocation and alter soil C status. The increase in the percentage of fine roots may then provide significant amounts of amino acids to the soil because fine roots are assumed to have high turnover and high amino

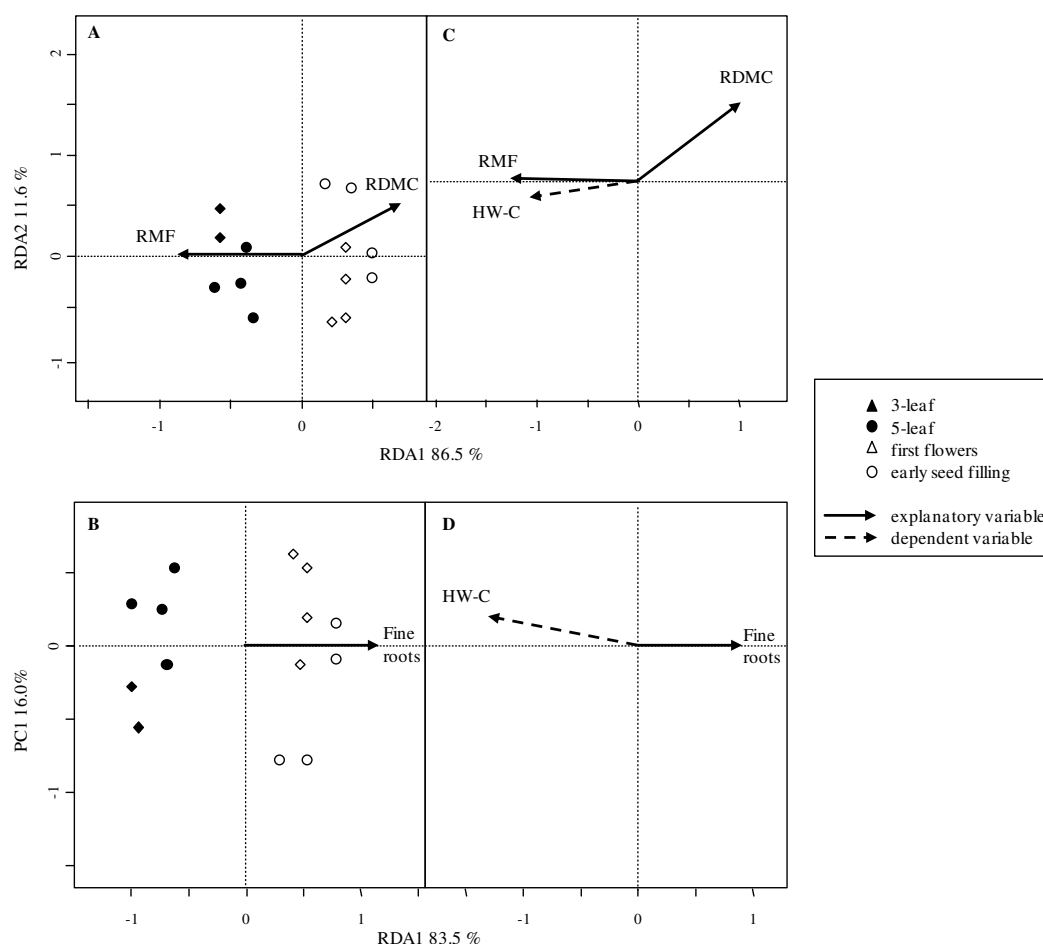


Fig. 2 Redundancy analysis of soil hot-water soluble C in relation to root-growth related traits (A and C) and root-architecture related traits (B and D). In RDA distance biplots (A and B), phenological stages are denoted for: 3-leaf with filled triangle (▲); 5-leaf with filled circle (●); first flowers with empty triangle (△); early seed filling with empty circles (○). In correlation biplots (C and D), solid lines are roots traits (explanatory variables), dashed line is soil hot-water soluble C (dependent variable). When only one explanatory variable was selected, RDA is constructed with only one constrained ordination axis (RDA 1), the second axis being an unconstrained residual axis (PC 1). The RDAs were significant at $P < 0.001$ and explained 88 % (A and C) and 82 % (B and D) of the variation

acid contents (Eissenstat et al., 2000; Jones et al., 2005). Microorganisms can mineralize amino acids via ammonification activity, which may alleviate soil C limitations.

Our results highlight that a suite of root traits can impact pea effects on the soil enzyme activities implicated in N mineralization, including ammonification activity. This work reinforces the importance of considering root traits to increase our understanding of the impact of plant species on soil N mineralization. However, our findings must be extended to other crops because plant traits vary substantially across plant species.

Acknowledgments

This study was funded by the French Minister of Higher Education and Research.

References

- Allison, S. D., Vitousek, P. M., 2005. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 937–944.
- Arsenault, J.-L., Pouleur, S., Messier, C., Guay, R., 1995. WinRHIZO™, a root-measuring system with a unique overlap correction method. *HortScience* 30, 906.
- Bardgett, R. D., Mommer, L., De Vries, F. T., 2014. Going underground: root traits as drivers of ecosystem processes. *Trends in Ecology and Evolution* 29, 692–699.
- Dijkstra, F. A., Carrillo, Y., Pendall, E., Morgan, J. A., 2013. Rhizosphere priming: a nutrient perspective. *Frontiers in Microbiology* 4, 1–8.
- Eissenstat, D. M., Wells, C. E., Yanai, R. D., Whitbeck, J. L., 2000. Building roots in a changing environment: implications for root longevity. *New Phytologist* 147, 33–42.
- Evans, J., Fettell, N. A., O'Connor, G. E., 1996. Nitrate accumulation under pea cropping and the effects of crop establishment methods: a sustainability issue. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 36, 581–586.
- Farrell, M., Hill, P. W., Farrar, J., DeLuca, T. H., Roberts, P., Kielland, K., Dahlgren, R., Murphy, D.V., Hobbs, P.J., Bardgett, R.D., Jones, D. L., 2013. Oligopeptides represent a preferred source of organic N uptake: a global phenomenon? *Ecosystems* 16, 133–145.
- Farrell, M., Prendergast-Miller, M., Jones, D. L., Hill, P. W., Condon, L. M., 2014. Soil microbial organic nitrogen uptake is regulated by carbon availability. *Soil Biology and Biochemistry* 77, 261–267.
- Jones, D. L., Healey, J. R., Willett, V. B., Farrar, J. F., Hodge, A., 2005. Dissolved organic nitrogen uptake by plants - an important N uptake pathway ? *Soil Biology and Biochemistry* 37, 413–423.
- Kopáček, J., Cosby, B. J., Evans, C. D., Hruška, J., Moldan, F., Oulehle, F., Wright, R. F., 2013. Nitrogen, organic carbon and sulphur cycling in terrestrial ecosystems: linking nitrogen saturation to carbon limitation of soil microbial processes. *Biogeochemistry* 115, 33–51.
- Laungani, R., Knops, J. M. H., 2012. Microbial immobilization drives nitrogen cycling differences among plant species. *Oikos* 121, 1840–1848.
- Legendre, P., Legendre, L., 1998. Numerical ecology. Second english edition. Elsevier Science B.V., Amsterdam.
- Mayer, J., Buegger, F., Jensen, E. S., Schloter, M., Heß, J., 2003. Residual nitrogen contribution from grain legumes to succeeding wheat and rape and related microbial process. *Plant and Soil* 255, 541–554.
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P. R., O'Hara, R. B., Simpson, G.L., Solymos P.M., Stevens H.H., Wagner, H., 2013. Vegan: Community Ecology Package. R package version 2.0-9. <http://cran.r-project.org/package=vegan>
- Orwin, K. H., Buckland, S. M., Johnson, D., Turner, B. L., Smart, S., Oakley, S., Bardgett, R. R., 2010. Linkages of plant traits to soil properties and the functioning of temperate grassland. *Journal of Ecology* 98, 1074–1083.
- Peres-Neto, P. R., Legendre, P., Dray, S., Borcard, D., 2006. Variation partitioning of species data matrices : estimation and comparison of fractions. *Ecology* 87, 2614–2625.
- Poorter, H., Niklas, K.J., Reich, P.B., Oleksyn, J., Poot, P., Mommer, L., 2012. Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. *New Phytologist* 193, 30–50.

-
- Powell, J. R., Anderson, I. C., Rillig, M. C., 2013. A new tool of the trade: plant-trait based approaches in microbial ecology. *Plant and Soil* 365, 35-40.
- Roumet, C., Lafont, F., Sari, M., Warembourg, F., Garnier, E., 2008. Root traits and taxonomic affiliation of nine herbaceous species grown in glasshouse conditions. *Plant and Soil* 312, 69–83.
- Van der Krift, T. A. J., Kuikman, P. J., Moller, F., Berendse, F., 2001. Plant species and nutritional-mediated control over rhizodeposition and root decomposition. *Plant Soil* 228, 191–200.
- Wanek, W., Mooshammer, M., Blöchl, A., Hanreich, A., Richter, A., 2010. Determination of gross rates of amino acid production and immobilization in decomposing leaf litter by a novel ¹⁵N isotope pool dilution technique. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 1293-1302.
- Wichern, F., Mayer, J., Georg, R., Müller, T., 2007a. Rhizodeposition of C and N in peas and oats after ¹³C – ¹⁵N double labelling under field conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2527-2537.
- Wichern, F., Mayer, J., Joergensen, R. G., Müller, T., 2007b. Release of C and N from roots of peas and oats and their availability to soil microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2829-2839.
- York, L. M., Nord, E. A., Lynch, J. P., 2013. Integration of root phenes for soil resource acquisition. *Frontiers in Plant Science* 4, 355.

Supplementary information

Appendix A: Materials and methods

Plant material, growth and harvest conditions

One seed of spring pea (*Pisum sativum* L., cv. Kayanne) was sown in a PVC tube (15 cm depth, 8 cm diameter) with a closed bottom containing 450 g of soil (Bouzule, Champenoux, France, 48° 74' N, 6° 35' E) that had been sieved at 5 mm. The soil (Vertic Cambisol (clayic): FAO-WRB classification) had the following characteristics: 62% clay, 35% silt, 3% sand, 26 g kg⁻¹ organic carbon, 2.6 g kg⁻¹ total N, and pH (water) 7.1. Due to its high clay content, soil was mixed with 10% sand (w/w) in order to facilitate the later separation of roots from the soil and to limit the probability of roots damage and loss. Plants were grown to maturity in a climate-controlled chamber under a photoperiod of 16 h and a temperature of 22.5 °C / 18 °C (day/night) without fertilization. Artificial lighting (MH Daylight 400 W, Osram, Munich, Germany) provided 300 µmol m⁻² s⁻¹ of photosynthetically active radiation. The soil was maintained at 80% of its water-holding capacity by weighing the tubes and watering them with tap water 5 times per week. Four random pea plants were harvested at the 3-leaf, 5-leaf, first flowers and early seed filling stages, corresponding to 10, 22, 49 and 59 days after emergence, respectively. The root systems were carefully removed from the PVC tube. The roots were manually separated from the soil, and the detached roots were collected using tweezers. The roots were gently cleaned under tap water, and root traits were immediately measured. The soil was stored at 4 °C until processing (within the week after sampling). Soil subsamples were frozen at -20 °C immediately after sampling and before soil DNA extraction.

Root trait measurements

Before digital scanning, the entire root system was suspended in 1 cm of deionized water in a 40 x 30 cm clear acrylic tray using tweezers. Then, the roots were scanned at a resolution of 400 dpi using a flatbed Epson Expression 10000XL scanner (Epson, Suwa, Japan). WinRHIZO Reg v.2005c software (Regent Instruments, Quebec, Canada) was used to analyze the scanned images using Regent's and Tennant's methods (Arsenault et al., 1995).

The total root length and the projected root surface area of each root system were determined. These values were subsequently used to calculate the root volume, root mean diameter (mm) and root length distribution per root diameter class (there were 10 root diameter classes, each with an increase of 0.1 mm; the tenth class referred to roots > 0.9 mm in diameter).

The root fresh weight (g) was determined after a 24 h rehydration in deionized water. Before being weighed, roots were carefully dried with filter paper. Then, the roots were frozen at -80 °C and freeze-dried on a Lyovac GT2 (Steris, Mentor, OH, USA), and their dry weight (g) was measured. The plant aerial parts were dried for 72 h at 60 °C and weighed.

The root dry matter content (RDMC, mg g⁻¹) was calculated as the ratio of the root dry mass to the root fresh mass. The root mass fraction (RMF, g g⁻¹) was calculated as the ratio of the whole root dry mass to the total plant dry mass. The root tissue density (RTD, cm³ g⁻¹) was calculated as the ratio of the root volume to the total root dry mass. The specific root length (SRL, m g⁻¹) was calculated as the ratio of the root length to the root dry mass. Finally, the fine root length percentage was calculated as the percentage of the total root length represented by roots with a diameter < 0.2 mm (Eissenstat, 1992). Dry roots were powdered using an MM 400 ball mill (Retsch, Haan, Germany), and the total root C and N contents were determined using a Flash EA 1112 elemental autoanalyzer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). The water-soluble root C and N contents were determined according to Nelson and Lym (2003). Briefly, 500 mg of powdered roots was incubated in 15 ml of deionized water for 1 h at 60 °C and was 150 filtered through a Whatman 42 filter (Sigma-Aldrich, Saint-Louis, MO, USA). The water-soluble root C and N contents were determined using a TOC-V CSH Total Organic Carbon analyzer (Shimadzu, Kyoto, Japan).

Soil N and C contents

Ten grams of fresh homogenized soil was shaken for 1 h with 100 ml of 2 M KCl solution and was then filtered through a Whatman 42 filter. The total mineral N content in the KCl extract was determined using a SAN++ CFA molecular absorption spectrometer (Skalar Analytical, Breda, The Netherlands). The soil residues were dried for 24 h at ambient temperature. Then, the soil C and N were extracted with hot water according to Vong et al. (2007). The total C and N in the hot water extracts (HW-C and HW-N, respectively) were measured using a TOC-V CSH (Shimadzu) and were used to calculate the hot water C/N ratio (HW-C/N).

Quantification of 16S rDNA and protease community abundances

The abundance of the total bacterial and protease communities were measured using quantitative PCR to amplify the 16S rDNA and *apr* genes, respectively (Lee et al., 1996; Bach et al., 2002). A portion of the 16S rDNA gene was amplified using the 341f and 534r primers (Lopez-Gutierrez et al., 2004), and the aprI and aprII primers were used to amplify part of the *apr* gene (Bach et al., 2002).

Soil DNA was extracted using the Fast DNA® 171 SPIN Kit for Soil (MP Biomedical, Santa Anna, CA, USA) according to the manufacturer's instructions. Standards for the quantification were obtained from cloned 16S rDNA and *apr* fragments ligated into PCR8®/GW/TOPO® plasmids (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA). For 16S rDNA, the reaction mixture contained 10 ng of template DNA, 1x Power SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), 1 µM of each primer and 250 ng of T4Gene 32 (MP Biomedicals, Strasbourg, France) in a final volume of 10 µl. The PCR conditions were as follows: 95 °C for 10 min and 35 cycles of 15 s at 95 °C, 30 s at 60 °C, and 30 s at 72 °C. For the *apr* gene, the reaction components included 10 ng of template DNA, 1x Power SYBR® Green PCR Master Mix, 1.75 µM of each primer and 150 ng of T4Gene 32 in a final volume of 20 µl. The PCR conditions were as follows: 95 °C for 10 min and 40 cycles of 20 s at 95 °C, 30 s at 53 °C, and 60 s at 72 °C (Gschwendtner et al., 2010). Each sample, control and standard was amplified in triplicate in different PCR plates. PCR was performed in a StepOnePlus™ thermocycler (Applied Biosystems). Cycling, data collection and calculations were performed with StepOne™ Software v.2.1. The specificity of the amplified products was confirmed using a melting curve analysis and the electrophoresis of the qPCR products on a 1.5% (w/v) agarose gel.

Soil microbial biomass C and N

The microbial biomass C (MBC) and the microbial biomass N (MBN) were estimated using the fumigation extraction method (Vance et al., 1987). The extracts were frozen at -20 °C until analysis. The extractible C and N concentrations were determined using a TOC-V CSH (Shimadzu). The microbial biomass C and N were determined by the following calculation: the C and N contents in the non-fumigated soil samples were subtracted from the C and N contents in fumigated soil samples, and the result was divided by an extraction coefficient (0.45 for C (Vance et al., 1987) or 0.54 for N (Brookes et al., 1985)).

Ammonification and protease activities

Potential ammonification activity was determined according to Bonde et al. (2001). Briefly, 1 g of fresh soil was mixed with 1.8 ml of deionized water and 0.2 ml of a 10 mM L arginine solution. The mixture was incubated for 1.5 h at 22 °C without further agitation. Ice-cold 2M KCl was used to recover extractible N after the incubation. Samples were centrifuged at 16,000g for 10 min at 4 °C, and the NH₄⁺ concentration in the supernatants was determined using a SAN++ CFA molecular absorption spectrometer (Skalar Analytical). For the controls, the procedure was as for the assays with the

exception that arginine was added after the incubation and the addition of 2M KCl. Ammonification activity was expressed as $\mu\text{g NH}_4^+ \text{ g}^{-1} \text{ dry soil h}^{-1}$.

Potential protease activity was determined according to Ladd and Butler (1972). One gram of fresh soil was incubated for 4 h at 45 °C with 2.5 ml of 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 8) and 2.5 ml of 2% sodium caseinate solution. The addition of 5 ml of 10% trichloroacetic acid stopped the reaction. After centrifugation at 16,000g for 2 min, 0.5 ml of the supernatant was mixed with 0.75 ml of 1.4 M sodium carbonate and 0.25 ml of 16.5% Folin-Ciocalteu reagent for 5 min. A standard curve was prepared using tyrosine and the concentration of tyrosine in each sample was determined colorimetrically using a Cary® 300 spectrophotometer (Varian, Palo Alto, CA, USA) at 680 nm. For the controls, the procedure was the same as for the assays, with the exception that sodium caseinate was added after the incubation and the addition of trichloroacetic acid. Protease activity was expressed as $\mu\text{g Tyr g}^{-1} \text{ dry soil h}^{-1}$.

Statistical analysis

All of the examined variables were analyzed using a Kruskal-Wallis test with the plant growth stage as a factor. The means were grouped using the `kruskalmc` function in the `pgirmess` package v. 1.5.8 (Giraudoux, 2013) to allow for multiple comparisons. To separate the influences of plant root traits and soil variables on enzymatic activities, the measured variables were divided into 4 groups: root growth traits (RTD, RDMC, RMF, total root C and N contents, and water-soluble root C and N contents), root architecture traits (SRL, root length, fine roots length percentage, and average diameter), soil variables (16S rRNA abundance, *apr* abundance, mineral N, HW-C, HW-N, HW-C/N, and microbial biomass C and N) and enzyme activities (ammonification activity and protease activity). The relationships between the different subsets of selected variables were analyzed using a redundancy analysis (RDA), a constrained ordination procedure based on the principal component analysis that allows assessments of the relationship between a set of explanatory variables and a set of response variables. Prior to the RDA, the set of explanatory variables underwent forward selection using the `ordistep` function (Oksanen et al., 2013) to select the most significant variables and avoid multicollinearity (Legendre and Legendre, 1998). To quantify the contribution of each of the three sets of selected variables (plant root growth traits, plant root architecture traits and soil variables) to the variations in ammonification and protease activities, variation partitioning was performed (Peres-Neto et al., 2006). The RDAs and variation partitioning were performed using the `vegan` 2.0-9 package (Oksanen, 2013).

The adjusted R^2 values were calculated using Ezekiel's formula (Ezekiel, 1930). The significance of the RDA and variation partitioning results was assessed using a Monte-Carlo permutation test with 1,000 permutations. Some correlations between variables were analyzed using the Pearson test. R 3.0.0 software (R Core Team 2013) was used for all the statistical analyses.

Appendix B: Table 1 Pea root functional traits, soil enzymatic activities and soil variables at 4 phenological stages

		3 leaves	5 leaves	First flowers	Early seed filling	<i>H'</i>
Root growth traits	Root tissue density (g cm ⁻³)	0.05 ± 0.00 ^a	0.05 ± 0.00 ^a	0.07 ± 0.00 ^{ab}	0.08 ± 0.00 ^b	11.00*
	Root dry matter content (mg g ⁻¹)	52.82 ± 0.28 ^a	55.68 ± 1.36 ^a	63.99 ± 0.96 ^{ab}	76.43 ± 4.10 ^b	11.17*
	Root mass fraction (g g ⁻¹)	0.34 ± 0.01 ^b	0.29 ± 0.03 ^b	0.09 ± 0.01 ^{ab}	0.08 ± 0.00 ^a	11.17*
	Total C (%)	37.51 ± 0.52 ^a	37.10 ± 0.57 ^a	38.24 ± 0.80 ^a	38.06 ± 0.62 ^a	1.37 NS
	Total N (%)	4.92 ± 0.16 ^b	3.66 ± 0.14 ^{ab}	2.55 ± 0.11 ^{ab}	2.21 ± 0.08 ^a	11.69**
	Water soluble C (%)	8.76 ± 1.08 ^a	6.46 ± 0.20 ^a	6.96 ± 0.14 ^a	6.92 ± 1.07 ^a	5.34 NS
	Water soluble N (%)	1.95 ± 0.13 ^b	1.28 ± 0.12 ^{ab}	0.60 ± 0.06 ^{ab}	0.34 ± 0.04 ^a	11.69**
Root architecture traits	Specific root length (m g ⁻¹)	524.70 ± 3.00 ^a	666.76 ± 58.36 ^a	847.91 ± 68.98 ^{ab}	990.31 ± 55.43 ^b	8.94*
	Length (m)	29.34 ± 5.60 ^a	37.03 ± 1.40 ^{ab}	53.31 ± 10.09 ^{ab}	71.94 ± 0.48 ^b	7.80*
	Fine roots length (%)	3.36 ± 0.16 ^a	14.22 ± 1.17 ^a	25.30 ± 2.45 ^{ab}	32.92 ± 0.85 ^b	12.11**
	Mean diameter (mm)	0.67 ± 0.03 ^b	0.80 ± 0.24 ^b	0.48 ± 0.01 ^{ab}	0.41 ± 0.01 ^a	11.60**
Enzymatic activities	Protease activity (µg Tyr h ⁻¹ g ⁻¹ dry soil)	152±12 ^a	137±6 ^a	133±10 ^a	158±13 ^a	2.38 NS
	Ammonification activity (µg N-NH ₄ ⁺ h ⁻¹ g ⁻¹ dry soil)	0.88±0.88 ^a	0.43±0.26 ^a	1.78±0.48 ^a	11.62±1.46 ^b	9.50*
Soil variables	16S rDNA (copies g ⁻¹ dry soil)	2.21 10 ⁵ ± 8.45 10 ^{4ab}	2.65 10 ⁶ ± 2.32 10 ^{5b}	1.86 10 ⁵ ± 3.59 10 ^{4a}	3.81 10 ⁵ ± 4.72 10 ^{4ab}	11.47**
	<i>apr</i> (copies g ⁻¹ dry soil)	1.95 10 ³ ± 8.63 10 ^{2ab}	3.53 10 ⁴ ± 4.81 10 ^{3b}	1.41 10 ³ ± 1.91 10 ^{2a}	3.19 10 ³ ± 1.17 10 ^{3ab}	8.71*
	Mineral N (µgN g ⁻¹ dry soil)	27.74 ± 1.05 ^a	20.43 ± 1.39 ^a	21.26 ± 2.36 ^a	25.69 ± 3.80 ^a	3.13 NS
	Hot-water soluble C (µgC g ⁻¹ dry soil)	580.25 ± 13.05 ^b	560.83 ± 19.25 ^b	301.64 ± 9.55 ^a	245.29 ± 19.36 ^a	10.49*
	Hot-water soluble N (µgN g ⁻¹ dry soil)	52.63 ± 1.94 ^{ab}	51.13 ± 3.26 ^a	83.21 ± 2.21 ^b	78.07 ± 4.83 ^{ab}	10.06*
	Hot-water soluble C/N	10.56 ± 0.40 ^b	11.04 ± 0.42 ^b	3.63 ± 0.07 ^a	3.13 ± 0.05 ^a	12.90**
	Microbial biomass C (µgC g ⁻¹ dry soil)	265.74 ± 7.98 ^b	219.55 ± 12.20 ^{ab}	191.63 ± 1.72 ^a	239.09 ± 19.71 ^{ab}	8.94*
	Microbial biomass N (µgN g ⁻¹ dry soil)	39.62 ± 2.26 ^a	29.29 ± 2.26 ^a	26.82 ± 2.82 ^a	37.59 ± 3.90 ^a	6.71 NS

Appendix C: Table 2 Selection of explanatory variables for RDA. AIC is the Akaike Information Criteria. The *p* value is the significance of the F-statistics associated with all variables tested using permutation tests. Variables are selected as explanatory if *p* < 0.05 (*). In case of significance equality, the variable with the lowest AIC is selected

<i>Root growth traits</i>	Enzymatic activities		Hot-water soluble C	
	AIC	<i>p</i> value	AIC	<i>p</i> value
Root dry matter content (mg g ⁻¹)	11.103	0.005*	0.874	0.001*
Total N (%)	5.496	0.090	-28.904	0.998
Total C (%)	6.490	0.150	-28.908	0.955
Root mass fraction (g g ⁻¹)	7.521	0.405	0.962	0.001*
Root tissue density (g cm ⁻³)	7.805	0.495	-31.087	0.208
Water soluble N (%)	7.674	0.500	-29.410	0.550
Water soluble C (%)	7.773	0.505	-29.166	0.681

<i>Root architecture traits</i>	Enzymatic activities		Hot-water soluble C	
	AIC	<i>p</i> value	AIC	<i>p</i> value
Length (m)	8.193	0.015*	-19.240	0.883
Fine roots length (%)	8.839	0.045*	0.962	0.001*
Mean diameter (mm)	6.296	0.500	-22.556	0.109
Specific root length (m g ⁻¹)	7.792	0.815	-19.397	0.734

<i>Soil variables</i>	Enzymatic activities	
	AIC	<i>p</i> value
Hot-water soluble C (µgC g ⁻¹ dry soil)	6.645	0.025*
Microbial biomass N (µgN g ⁻¹ dry soil)	5.526	0.100
Mineral N (µgN g ⁻¹ dry soil)	2.030	0.145
Microbial biomass C (µgC g ⁻¹ dry soil)	1.023	0.395
Hot-water soluble N (µgN g ⁻¹ dry soil)	0.822	0.455
Hot-water soluble C/N	0.543	0.540
16S rDNA (copies g ⁻¹ dry soil)	0.310	0.730
<i>apr</i> (copies g ⁻¹ dry soil)	0.261	0.765

References

- Arsenault, J.-L., Pouleur, S., Messier, C., Guay, R., 1995. WinRHIZO™, a root-measuring system with a unique overlap correction method. *HortScience* 30, 906.
- Bach, H., Tomanova, J., Schloter, M., Munch, J. C., 2002. Enumeration of total bacteria and bacteria with genes for proteolytic activity in pure cultures and in environmental samples by quantitative PCR mediated amplification. *Journal of Microbiological Methods* 49, 235–245.
- Bonde, T. A., Nielsen, T. H., Miller, M., Sørensen, J., 2001. Arginine ammonification assay as a rapid index of gross N mineralization in agricultural soils. *Biology and Fertility of Soils* 34, 179–184.
- Brookes, P. C., Kragt, J. F., Powelson, D. S., Jenkinson, D. S., 1985. Chloroform fumigation and the release of Soil-Nitrogen - the effects of fumigation time and temperature. *Soil Biology and Biochemistry* 17, 831–835.
- Cornelissen, J.H.C., Lavorel, S., Garnier, E., Díaz, S., Buchmann, N., Gurvich, D.E., Reich, P.B., ter Steege, H., Morgan, H.D., Van Der Heijden, M.G.A., Pausas, J.G., Poorter, H., 2003. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* 51, 335–380.
- Eissenstat, D. M., 1992. Costs and benefits of constructing roots of small diameter. *Journal of Plant Nutrition* 15, 763–782.
- Ezekiel, M., 1930. *Methods of correlational analysis*. Wiley, New York.
- Giraudoux, P., 2013. *Pgirmess: Data analysis in ecology*. R package version 1.5.8. <http://cran.r-project.org/package=pgirmess>
- Gschwendtner, S., Reichmann, M., Müller, M., Radl, V., Munch, J. C., 2010. Abundance of bacterial genes encoding for proteases and chitinases in the rhizosphere of three different potato cultivars. *Biology and Fertility of Soils* 46, 649–652.
- Ladd, J. N., Butler, J. H. A., 1972. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biology and Biochemistry* 4, 19–30.
- Lee, S. Y., Bollinger, J., Bezdicek, D., Ogram, A., 1996. Estimation of the abundance of an uncultured soil bacterial strain by a competitive quantitative PCR method. *Applied and Environmental Microbiology* 62, 3787–3793.
- Legendre, P., Legendre, L., 1998. *Numerical ecology*. Second english edition. Elsevier Science B.V., Amsterdam.
- Lopez-Gutierrez, J. C., Henry, S., Hallet, S., Martin-Laurent, F., Catroux, G., Philippot, L., 2004. Quantification of a novel group of nitrate-reducing bacteria in the environment by real-time PCR. *Journal of Microbiological Methods* 57, 399–407.
- Nelson, J.A., Lym, R.G., 2003. Interactive effects of *Aphthona nigricutis* and picloram plus 2,4-D in leafy spurge (*Euphorbia esula*). *Weed Science* 51, 118–124.
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P. R., O'Hara, R. B., Simpson, G.L., Solymos P.M., Stevens H.H., Wagner, H., 2013. *Vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.0-9. <http://cran.r-project.org/package=vegan>
- Peres-Neto, P. R., Legendre, P., Dray, S., Borcard, D., 2006. Variation partitioning of species data matrices : estimation and comparison of fractions. *Ecology* 87, 2614–2625.
- R Core Team, 2013. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>
- Vance, E. D., Brookes, P. C., Jenkinson, D. S., 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass-C. *Soil Biology and Biochemistry* 19, 703–707.
- Vong, P., Piutti, S., Slezack-deschaumes, S., Benizri, E., Robin, C., Guckert, A., 2007. Water-soluble carbon in roots of rape and barley : impacts on labile soil organic carbon , arylsulphatase activity and sulphur mineralization. *Plant and Soil* 294, 19–29.

Combined effects of pea residues and wheat root functional traits on soil protease activity

Nicolas Romillac^{a,b}, Séverine Piutti^{a,b}, Bernard Amiaud^{c,d}, Sophie Slezack-Deschaumes^{a,b}

^a Université de Lorraine, Laboratoire Agronomie et Environnement, UMR 1121, TSA 40602, F-54518 Vandœuvre cedex, France

^b INRA, Laboratoire Agronomie et Environnement, UMR 1121, TSA 40602, F-54518 Vandœuvre cedex, France

^c Université de Lorraine, UMR 1137, Ecologie et Ecophysiologie Forestière, F-54500 Vandœuvre lès Nancy, France

^d INRA, UMR 1137, Ecologie et Ecophysiologie Forestière, F-54280 Champenoux, France

Mis en forme pour **Pedobiologia**

Introduction

Grain legumes may have beneficial yield effects to the succeeding cereal crop (Arcand et al., 2014; Beckie et Brandt, 1997; Stevenson and van Kessel, 1996). These effects have been partly attributed to an improvement of the soil N supply to the succeeding crop (Mayer et al., 2003, Arcand et al., 2013, 2014). Indeed, legumes N inputs have been shown to be higher than other crops (Soon and Arshad, 2002). These inputs include crop residues which usually present higher N concentrations and lower C/N ratio than cereals (Arcand et al., 2014; Nicolardot et al., 2001; Soon and Arshad, 2002). This also includes N rhizodeposits that represent a significant part of soil N pools, mainly immobilized in microbial biomass and as labile microbial residues (Jensen, 1996; Mayer et al., 2003). Due to the chemical nature of residues of grain legumes and their C/N stoichiometry, it is assumed that they can favor N mineralization and therefore return more nutrients to the subsequent crop (Gan et al., 2010; Manzoni et al., 2008; Soon and Arshad, 2002; Stevenson and van Kessel, 1996). However, biochemical characteristics of plant residues are not the only factors that influence soil N dynamic. Indeed, subsequent crops will also exert a control of N mineralization (Mayer et al., 2003; Yuan et al., 2011). During their growth, plants influence soil microbial communities inhabiting the rhizosphere that are the major decomposers of organic matter and thus, affect N mineralization (Zhu et al., 2014; Kuzyakov, 2010). As soil microorganisms are often C limited in soil, simple organic compounds released by roots (exudation) constitute an important source of C and nutrients for these microbial communities (Nguyen, 2003). The root exudates will have an impact on soil microbial biomass, changing its composition, increasing its size and its activity (De Graaff et al., 2010; Nguyen and Henry, 2002, Pascault et al., 2013). This microbial activation has further consequences in the decomposition of soil organic matter and plant residues (Dijkstra et al., 2013, Kuzyakov, 2010). Indeed, by increasing microbial biomass and activity, C compounds released by roots can create microbial N demand, especially during the early steps of residue decomposition that require mineral N (Manzoni et al., 2008; Zhu et al., 2014). Furthermore, plant N uptake can further decrease the N availability for soil microorganisms (Bell et al., 2015). Therefore, to meet their N requirement, microorganisms could synthesize extracellular enzymes implicated in the breakdown of complex organic nitrogen (Averill and Finzi, 2011; DeAngelis et al., 2008; Dijkstra et al., 2013). Then, after the mining of N, this nutrient can be immobilized in the microbial biomass and it can become available for plants through the turnover of microorganisms (Kuzyakov and Xu, 2013; Phillips et al., 2011).

Among extracellular enzymes that can be induced to convert complex organic N into bioavailable compounds, proteases are assumed to play a major role (Geisseler and Horwath, 2008). Indeed, proteins constitute the most abundant form of organic N in soil and residues, with potential high turnover rates (Kögel-Knaber, 2002). Furthermore, the degradation of proteins is considered as a key

limiting step in N mineralization that could further influence soil-derived N supply (Jones et al., 2004; Jan et al., 2009). Different mechanisms regulating soil extracellular enzymes such as proteases have been suggested that allow microorganisms to potentialize N and energy that are invested to produce these enzymes (Allison and Vitousek, 2005; Averill and Finzi, 2011; Geisseler et al., 2008). Indeed, even if these enzymes can be produced constitutively, proteases appear to be mainly up-regulated in response to addition of substrate-limited N (Geisseler and Horwath, 2008, 2009). By contrast, the presence of mineral N or easily metabolizable sources of N seems to have contradictory effects on the regulation of soil proteases (Beg et al., 2002; Geisseler and Horwath, 2008).

Considering all these elements, the ways by which plants such as legumes impact N mineralization could be broadly divided into those that modify the balance between N input / output and those that alter soil microbial communities driving N mineralization. However, our understanding of how plants alter microbial activities implicated in N mineralization remains poorly understood (Grigulis et al., 2013). To get a better understanding, plant trait-based approaches can be relevant (Powell et al., 2013). Few studies showed that soil microbial communities' composition and microbial activities implicated in soil N mineralization were explained by root traits (Klumpp et al., 2009; Legay et al., 2014; Romillac et al., 2015). These results highlight that root traits could be a critical tool to understand and quantify the relative influence of plants on the functioning of soil microbial communities (York et al., 2013; Bardgett et al., 2014).

The objectives of our study were *i)* to progress in the understanding of root traits that govern the potential influence of wheat on soil protease activity and, *ii)* to evaluate the potential influence of the residual effects of pea (crop residues and N rhizodeposits) on the interaction between wheat and soil protease activity. An experiment in controlled conditions was conducted on a spring wheat cultivar. Vegetative and reproductive periods of wheat were considered since plant N needs, root system architecture and rhizodeposition are assumed to evolve between vegetative and reproductive stages. Extracellular protease activities and root traits related to root growth processes, N interception and rhizodeposition processes were analyzed at each sampling date. Soil variables (i.e. soil inorganic N, organic extractible C and N, size of microbial biomasses N) were also measured, as they are a) putative drivers of extracellular protease and b) possibly affected by root patterns and the presence of pea residues. We hypothesized that (1) pea residues have a higher impact on extracellular protease activity than wheat, as pea residues are potential substrates for proteases, (2) root traits indirectly alter extracellular protease through modifications of soil driving factors.

Material and methods

Soil

The soil used was a Vertic Cambisol (clayic) (FAO-WRB classification) soil taken from the 0-20 cm layer at the research farm “Bouzule” in north-east of France (48° 74' N, 6° 35' E). After sampling, the soil was air dried, sieved at 5 mm and mixed with 10 % sand (w/w). The soil has the following characteristics: 62% clay, 35% silt, 3% sand, 26 g kg⁻¹ organic carbon, 2.6 g kg⁻¹ total N, and pH (water) 7.1.

Preparation of soil and pea residues

Pea (*Pisum sativum* L., cv. Kayanne) were grown in a climate-controlled chamber, as described in Romillac et al. (2015). At maturity, all visible roots and root fragments were manually separated from the soil and collected. The aerial parts of the plants were also harvested. The soil containing rhizodeposits (cultivated soil) was stored at 18°C in the dark during 24h before processing.

During the growing period of pea, a non-cultivated soil maintained at 80% of its water-holding capacity was stored in the dark in the climate-controlled chamber.

Pea residues (root and aerial parts) were dried at 60°C and cut into 2-3 mm pieces with scissors. The mix of root and aerial residues contained 39.6 % total C, 1.31 % total N, 41.2 mg g⁻¹ soluble C and 4.43 mg g⁻¹ soluble N. Soil properties of the cultivated and non-cultivated soils are listed in table 1.

Table1 Control soil (C) and soil previously cropped with pea (P) characteristics before planting. Values are average ± SEM. n: number of replicates, MBN: microbial biomass N, P soil: soil previously cropped, C soil: control soil. Significance: n.s. = non significant., * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

Variables	P soil	C soil	X ²
n	8	8	
Protease activity (µg Tyr h ⁻¹ g ⁻¹ dry soil)	45.1 ± 3.7	50.8 ± 5.9	0.40 n.s.
Mineral N (µg N g ⁻¹ dry soil)	37.3 ± 3.0	63.2 ± 2.4	11.29***
MBN (µg C g ⁻¹ dry soil)	56.8 ± 1.3	51.4 ± 1.5	3.98*
Soluble C (µg C g ⁻¹ dry soil)	28.6 ± 3.1	24.7 ± 1.3	0.70 n.s.
Soluble N (µg N g ⁻¹ dry soil)	14.6 ± 0.8	37.7 ± 0.8	11.29***

Experimental design

The experiment was composed of four treatments: non-cultivated soil (control, C), non-cultivated soil with pea residues (R treatment), cultivated soil with pea rhizodeposits (P treatment) and cultivated soil with pea rhizodeposits and residues (P+R treatment). Pea residues were homogeneously mixed into the soil at a rate of 1 g of C kg⁻¹ of dry soil equivalent. C and P soils were also homogeneously mixed before potting.

One seed of spring wheat (*Triticum aestivum* L., cv. Sensas) was sown in a PVC tube (15 cm depth, 8 cm diameter) with a closed bottom containing 450 g of one of the four soil types *i.e.* C, R, P or P+R soil type. Plants were grown up to maturity as described in Romillac et al. (2015). The soil was maintained at 80 % of its water-holding capacity by weighting the tubes and watering them with tap water 5 times a week. Between 3-leaf and first tiller stages, plants received 375 mg N tube⁻¹ (equivalent to 50 units ha⁻¹) as NH₄NO₃ (Sigma Aldrich, Saint Louis, USA).

Wheat plants were randomly harvested at 3 leaf-unfolded, first tillers, 2 nodes, early flowering, and maturity stages, which correspond to 14, 22, 28, 41 and 89 days after emergence, respectively. The root systems were carefully removed from the PVC tubes. The roots were manually separated from the soil, and the detached roots were collected using tweezers. After gently shaking the roots, soil aggregates that remained attached were collected. The roots were gently cleaned under tap water, and root traits were immediately measured. The soil was stored at 4 °C until processing (within the week after sampling).

Measurement of root traits

Before digital scanning, roots were suspended in 1 cm of deionized water in a 40 x 30 cm clear acrylic tray using tweezers. Then, roots were scanned at 400 dpi with an Epson Expression 10000XL scanner (Epson, Suwa, Japan). The WinRHIZO Reg v.2005c software (Regent Instruments, Quebec, Canada) was used to analyse scanned images using the Regent's and the Tennant's methods (Arsenault et al. 1995) in order to evaluate the total root length and the projected root surface area of each root system. The root volume (cm³), root surface area (cm²), root mean diameter (mm) and root length distribution per root diameter classes (10 root diameter classes, 0.1 mm each, the tenth for roots > 0.9 mm diameter) were subsequently calculated.

Root fresh weight (g) was determined after 24 h rehydration in deionized water and drying with filter paper. Afterwards, roots were frozen at -80°C, freeze-dried on a Lyovac GT2 (Steris, Mentor, USA), and weighted to measure the root dry weight (g). Plant aerial parts were dried 72 h at 60 °C and weighted.

Specific Root Length (SRL, m g^{-1}) was calculated as the ratio of root length to root dry mass. Root Dry Matter Content (RDMC, mg g^{-1}) was calculated as the ratio of root dry mass to root fresh mass. Finally, the fine root percentage was calculated as the percentage of the total root length represented by root length with a diameter $< 0.2 \text{ mm}$ (Eissenstat, 1992).

Dry roots were powdered using a ball mill MM 400 (Retsch, Haan, Germany) and the total root N and C contents was estimated using an element autoanalyser Flash EA 1112 (ThermoFisherScientific, Waltham, USA). Total Root C/N (T-C/N) was subsequently calculated.

Water-soluble Root N (S-RNC) and C (S-RCC) contents were determined according to Nelson and Lym (2003). Briefly, 500 mg of powdered roots were incubated in 15 ml of deionized water during 1 h at 60°C and filtered through a Whatman 42 filter (Sigma-Aldrich, Saint-Louis, USA). S-RNC and S-RCC were determined using a Total Organic Carbon analyzer TOC-V CSH (Shimadzu, Kyoto, Japan).

Soil N and C contents

Soil mineral N was extracted with 2 M KCl (1:10 w/v) on an end-over-end shaker for 1 hour and then filtered through a Whatman 42 filter. Total mineral N content in KCl extract was determined using a molecular absorption spectrometer SAN++ CFA (Skalar Analytical, Breda, The Netherlands).

Soil soluble C and N were extracted with 0.5 M K_2SO_4 (1:5 w/v) on an end-over-end shaker for 40min and then filtered through a Whatman No 42 filter (Bell et al., 2015). C and N in K_2SO_4 extract were determined using a TOC-V CSH (Shimadzu, Kyoto, Japan).

Soil N microbial biomass (MBN)

MBN was estimated by the fumigation extraction method (Vance et al. 1987). The extracts were frozen at -20°C until analysis. The extractible N concentration was determined using a TOC-V CSH (Shimadzu, Kyoto, Japan). MBN was determined by subtracting N content in the non-fumigated samples to N content in fumigated soil samples, respectively, and divided by an extraction coefficient of 0.54 (Brookes et al. 1985).

Potential protease activity

Potential protease activity was determined according to Ladd and Butler (1972). Briefly, 1g of fresh homogenised soil was incubated for 4 h at 45°C with 2.5 ml of 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 8) and 2.5 mL 2% sodium caseinate solution. The addition of 5mL 10% trichloroacetic acid stopped the reaction. After centrifugation at 16,000 g for 2 min, 0.5 mL of supernatant was mixed with 0.75 mL 1.4M sodium

carbonate and 0.25ml 16.5% Folin-Ciocalteu reagent during 5 min. A standard curve was prepared using tyrosine and the concentration of tyrosine in each sample was determined colorimetrically using a Cary® 300 spectrophotometer (Varian, Palo Alto, CA, USA) at 680 nm. For the controls, the procedure was the same as for the assay, with the exception that sodium caseinate was added after the incubation and the addition of trichloroacetic acid. Protease activity was expressed as $\mu\text{g Tyr g}^{-1}$ dry soil h^{-1} .

Statistical analysis

Exploratory analysis of the data was performed using principal component analysis (PCA) performed with the package RcmdrPlugin.FactoMineR v1.5-0 (Husson et al., 2015).

All variables were submitted to a Kruskal-Wallis test with the plant growth stage or the soil treatment as factors. The means were grouped by the function “kruskalmc”, package pgirmess 1.5.8 (Giraudoux 2013), to allow multiple comparisons.

In order to disentangle the influence of plant root traits and soil variables on enzymatic activities, measured variables were grouped in 2 sets (root functional traits and soil variables) and one stand alone variable (protease activity). Each set was submitted to forward selection using the function “ordistep” (Oksanen et al. 2013) in order to select the most significant variables and avoid multicollinearity (Legendre and Legendre 1998). The relationships between the different subsets of selected variables were analyzed using redundancy analysis (RDA), a constrained ordination procedure based on principal component analysis which allows assessing the relationship between a set of explanatory variables and a set of response variables. RDAs were performed using package vegan 2.0-9 (Oksanen 2013). The adjusted R^2 were calculated using Ezekiel’s formula (Ezekiel, 1930). The significance of the RDAs and variation partitioning was tested by Monte-Carlo permutation test with 1,000 permutations.

Some correlations between variables were analyzed using Pearson test. The R 3.0.0 software (R Core Team 2013) was used for all statistical analysis.

Results

Evolution of the protease activity

Potential protease activity ranged from about 35 to 94 $\mu\text{g Tyr h}^{-1} \text{g}^{-1}$ dry soil (Fig. 1). This activity was significantly influenced by soil treatment ($\chi^2=39.07$, $p<0.001$). The addition of pea residues (R and P+R treatments) increased potential protease activity by 84 and 90% for R and P+R respectively. The means

of protease activity were $83.1 \pm 5.35 \mu\text{g Tyr h}^{-1} \text{g}^{-1}$ dry soil and $74.2 \pm 4.39 \mu\text{g Tyr h}^{-1} \text{g}^{-1}$ dry soil in R and P+R treatments, respectively as compared to $45.5 \pm 3.59 \mu\text{g Tyr h}^{-1} \text{g}^{-1}$ dry soil and $39.7 \pm 2.39 \mu\text{g Tyr h}^{-1} \text{g}^{-1}$ dry soil in control soil and soil containing pea rhizodeposits, respectively. The presence of pea rhizodeposits had no significant influence on potential protease activity as compared to the control (Fig. 1.).

Potential protease activity changed significantly ($\chi^2=19.88$, $p<0.01$) along the phenology of wheat. In control and pea rhizodeposits amended soils, protease activity only slightly evolved along wheat phenology. In control soil, a significant change in protease activity was observed between 3-leaf and early flowering stages ($\chi^2=11.13$, $p<0.05$) whereas, in pea rhizodeposits amended soils, a significant decrease was observed between early flowering and maturity stages ($\chi^2=16.35$, $p<0.05$). By contrast, in soils amended with pea residues, activity increased strongly at 3-leaf stage (from 55.84 ± 6.47 to 93.90 ± 7.88 and from 40.85 ± 6.46 to $71.26 \pm 7.50 \mu\text{g Tyr h}^{-1} \text{g}^{-1}$ dry soil, for soils R and P+R, respectively,). Then, protease activity decreased significantly at maturity of wheat (47.63 ± 8.62 and $50.99 \pm 9.10 \mu\text{g Tyr h}^{-1} \text{g}^{-1}$ dry soil for R and P+R soils respectively) ($\chi^2=14.84$ and 12.71 for soils R and P+R, respectively, $p<0.05$).

Evolution of the soil variables

PCA represented 77% of the total variability on the first two axes (PC1 and PC2). This analysis showed that soil variables (MBN, soil soluble C and N and mineral N) were affected by both wheat phenology and the presence of pea residues into the soil (Fig. 2). PC1, which explained 44% of the total variability, enabled the discrimination between control soil and soils containing pea rhizodeposits and pea residues. Furthermore, PC2, which accounted for 33% of the total variability, opposed samples analyzed at 3-leaf and first tillers stages to those of the other stages. Across soil treatments, soils containing pea rhizodeposits (P and P+R treatments) have lower mineral and soluble N contents (Tables 1 and 2). Mineral N decreased among soil treatments in the following order: $C > R > P > P+R$ whereas soluble N content decreased by 41% in soils containing pea rhizodeposits (P and P+R) compared to other soils (C and R). MBN was influenced by the presence of pea residues, but only in soils previously cropped in pea, being 1.3 times highest in soil P+R compared to soil P. However, soil soluble C was not influenced by the soil treatments (Tables 1 and 2).

All variables but soil soluble N were influenced by the wheat development stage (Table 2). Soil mineral N globally decreased by a factor 2.6 along wheat development, from 3 leaves to maturity, but with a temporary increase at stage first tillers. Soil soluble C increased 2.7 times between stages first tillers and 2 nodes but was otherwise unaffected by wheat development.

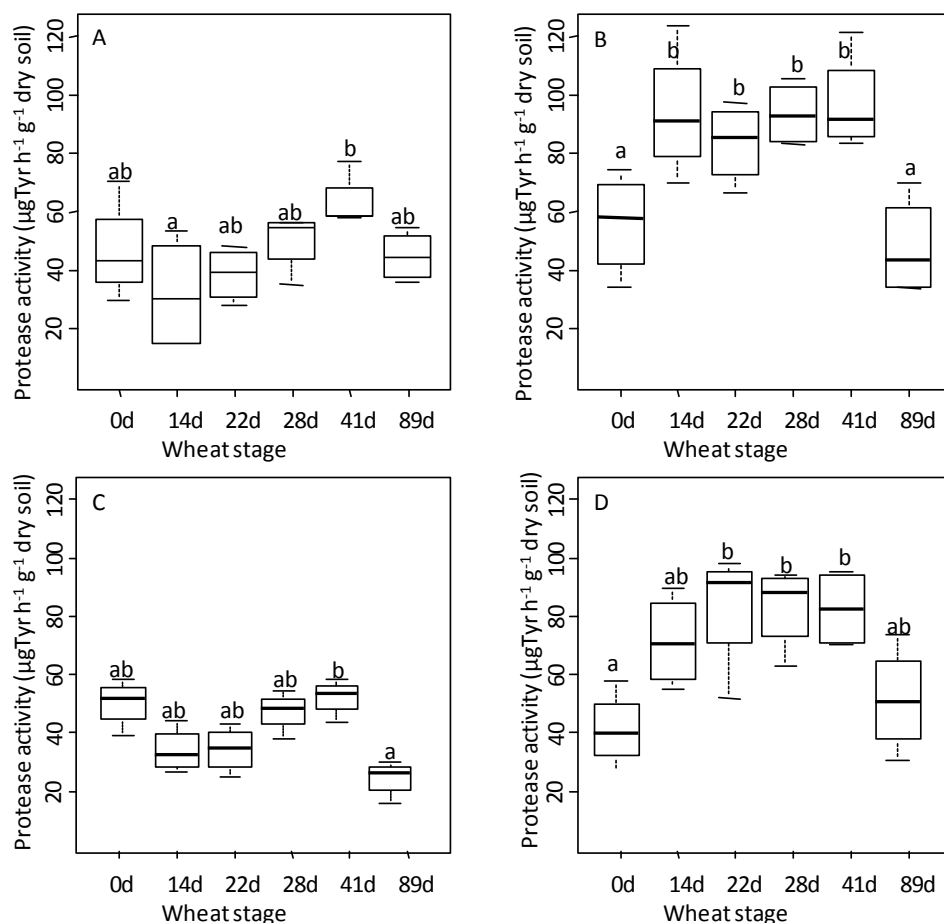


Figure 1 Potential protease activity at different wheat phenological stages and in different soil conditions. Soil treatments: A, control soil; B, soil amended with pea residues; C, soil previously cropped with pea; D, soil previously cropped with pea amended with pea residues. Wheat stages: 0d, before sowing; 14d, 3 leaves unfolded; 22d, first tillers; 28d, 2 nodes; 41d, early flowering; 89d, maturity. Different letters indicate significant differences between means ($P < 0.05$)

Evolution of wheat root traits

PCA showed that root functional traits evolved mostly according to wheat phenology and were not influenced by soil treatments (Fig.3.) with the exception of SRL. The PC1, which explained 50% of the total variation, clearly discriminated root traits along wheat development and showed a shift during plant growth. Root traits from 3-leaf to 2 nodes stages displayed PC1 scores different from those of root traits at flowering and maturity. S-RNC, S-RCC and root N uptake showed a similar trend of evolution since the values of these traits tend to decrease along wheat phenology (Table 3). S-RNC significantly decreased at early flowering stage whereas root N uptake decreased successively at 2 nodes stage and maturity. S-RCC was quite stable over time even if a significant decrease was observed between 2-nodes and maturity stages. By contrast, root dry weight, total root length, RDMC, % of fine roots and root C/N ratio increased along wheat phenology (Table 3). Root dry weight and total root length increased until early flowering and then decreased while RDMC, % of fine roots and root C/N ratio increased from 3 leaves stage to maturity. The only exception was SRL, which was correlated with

the third axis of the PCA (13% of the total variation), and did not vary across wheat phenology but was slightly increased by the presence of pea rhizodeposits (Table 3).

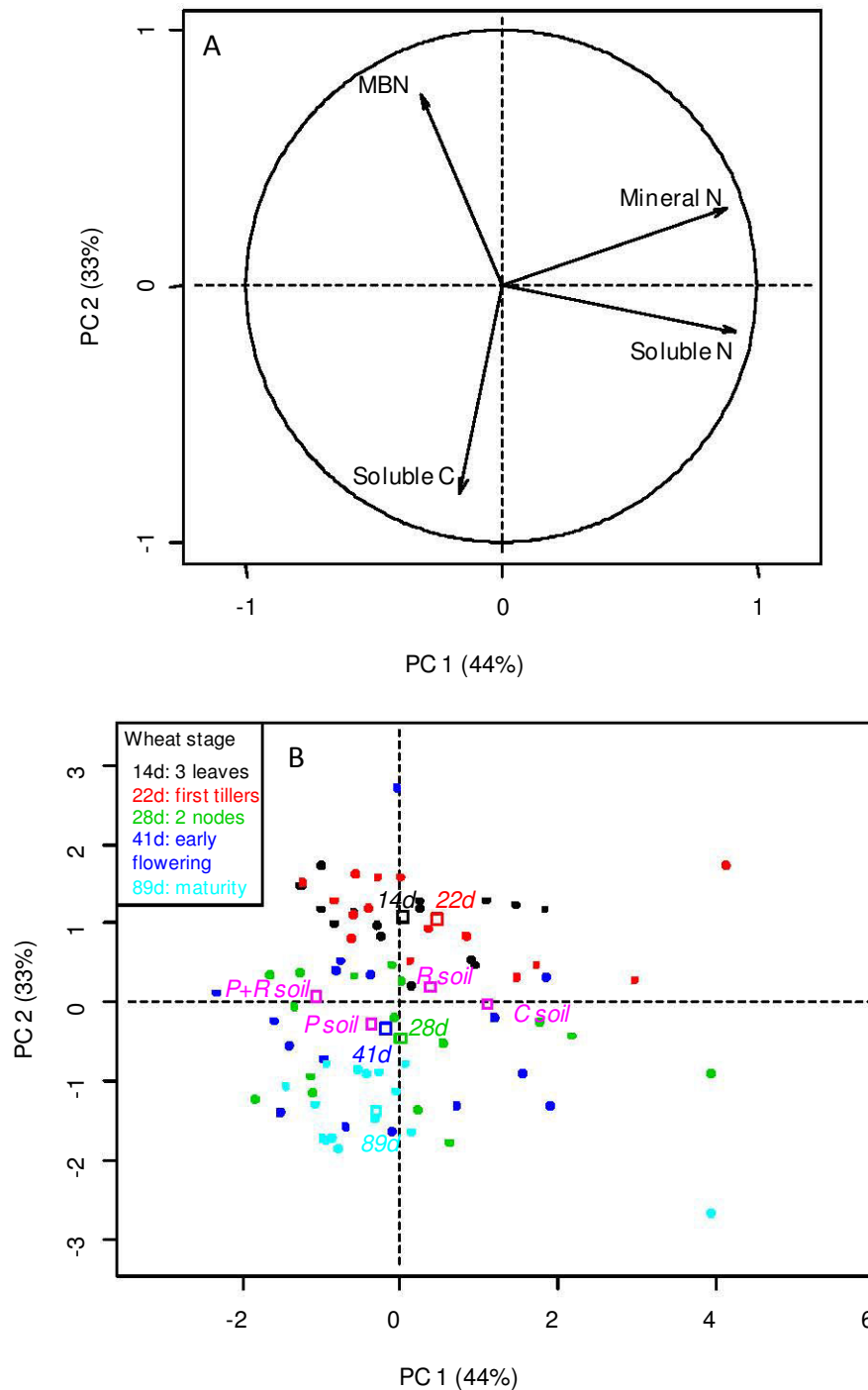


Figure 2 Comparison of soil variables by Principal Component Analysis (A, correlation biplot and B, distance biplot) from 14 to 89 days after sowing. First two axes are presented. Individuals are colored according to phenological stage. Squares (■) represent centroid of the phenological stage or soil treatment treatments. C soil, control soil, R soil, soil amended with pea residues, P soil, soil previously cropped with pea, P+R soil, P soil amended with pea residues

Table 2 Average $\pm$ SEM of the soil variables in the 4 soil treatments and along wheat phenology. Different letters indicate significant differences between means ($P < 0.05$). n: number of replicates, MBN: microbial biomass N. Soil treatments: C soil, control soil, R soil, soil amended with pea residues, P soil, soil previously cropped with pea, P+R soil, P soil amended with pea residues. Significance: n.s. = non significant., * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

	Soil treatments					Wheat development stages					
	C	R	P	P+R	χ^2	3 leaves	First tillers	2 nodes	Early flowering	Maturity	χ^2
n	19	20	19	20		16	16	16	16	16	
Mineral N ($\mu\text{gN g}^{-1}$ dry soil)	32.1 $\pm$ 3.2a	27.4 $\pm$ 2.2ab	20.5 $\pm$ 1.6bc	17.3 $\pm$ 1.3c	21.4***	26.1 $\pm$ 1.7ab	32.8 $\pm$ 3.1b	23.4 $\pm$ 2.9ab	20.5 $\pm$ 2.5a	19.1 $\pm$ 2.4a	17.3**
Soluble C ($\mu\text{gC g}^{-1}$ dry soil)	55.3 $\pm$ 5.9	61.1 $\pm$ 9.0	57.5 $\pm$ 7.6	68.0 $\pm$ 7.9	1.5n.s.	31.7 $\pm$ 1.2a	27.6 $\pm$ 1.2a	72.5 $\pm$ 8.8b	74.43 $\pm$ 6.0b	96.9 $\pm$ 5.5b	47.9***
Soluble N ($\mu\text{gN g}^{-1}$ dry soil)	22.6 $\pm$ 1.6a	19.8 $\pm$ 1.7a	14.0 $\pm$ 1.2b	11.0 $\pm$ 0.6b	34.0***	16.6 $\pm$ 1.8	15.9 $\pm$ 1.8	17.1 $\pm$ 2.1	18.1 $\pm$ 1.9	16.2 $\pm$ 2.0	9.0n.s.
MBN ($\mu\text{gC g}^{-1}$ dry soil)	44.6 $\pm$ 3.8ab	54.1 $\pm$ 4.1ab	41.9 $\pm$ 2.2a	55.7 $\pm$ 2.6b	12.6**	59.4 $\pm$ 2.0b	52.7 $\pm$ 3.3b	45.2 $\pm$ 3.2ab	50.9 $\pm$ 5.2ab	36.8 $\pm$ 2.3a	27.3***

Relationship between protease activity, soil variables and root functional traits

Redundancy analyses (RDA) were used to assess the relationships between potential protease activity, soil variables and root functional traits. The RDA involving soil variables as explanatory factor explained 17% of the protease activity variation. MBN was the only soil significant explanatory variable (RDA $r^2=0.17$, Fig. 4). Indeed, potential protease activity was positively related to MBN ($r=0.66$, $p<0.001$).

Protease activity was not related to any of the root traits that have been measured. However, RDMC and total root length were the most explanatory root traits for MBN. MBN was negatively correlated to RDMC ($r=-0.40$, $p<0.001$) and total root length ($r=-0.42$, $p<0.001$) and the RDA explained 22% of the variation (Fig. 5).

Discussion

In this study, we developed a mechanistic approach based on plant root traits in order to have a better understanding of the combined influence of wheat along its growth and pea residues (crop residues and rhizodeposits) inputs on soil potential protease activity. More precisely, we analyzed the relative effects of *i)* soil properties *i.e.* soil nutrient contents and microbial biomass N and *ii)* root traits including both their direct and indirect effects *via* soil properties, on potential soil protease activity.

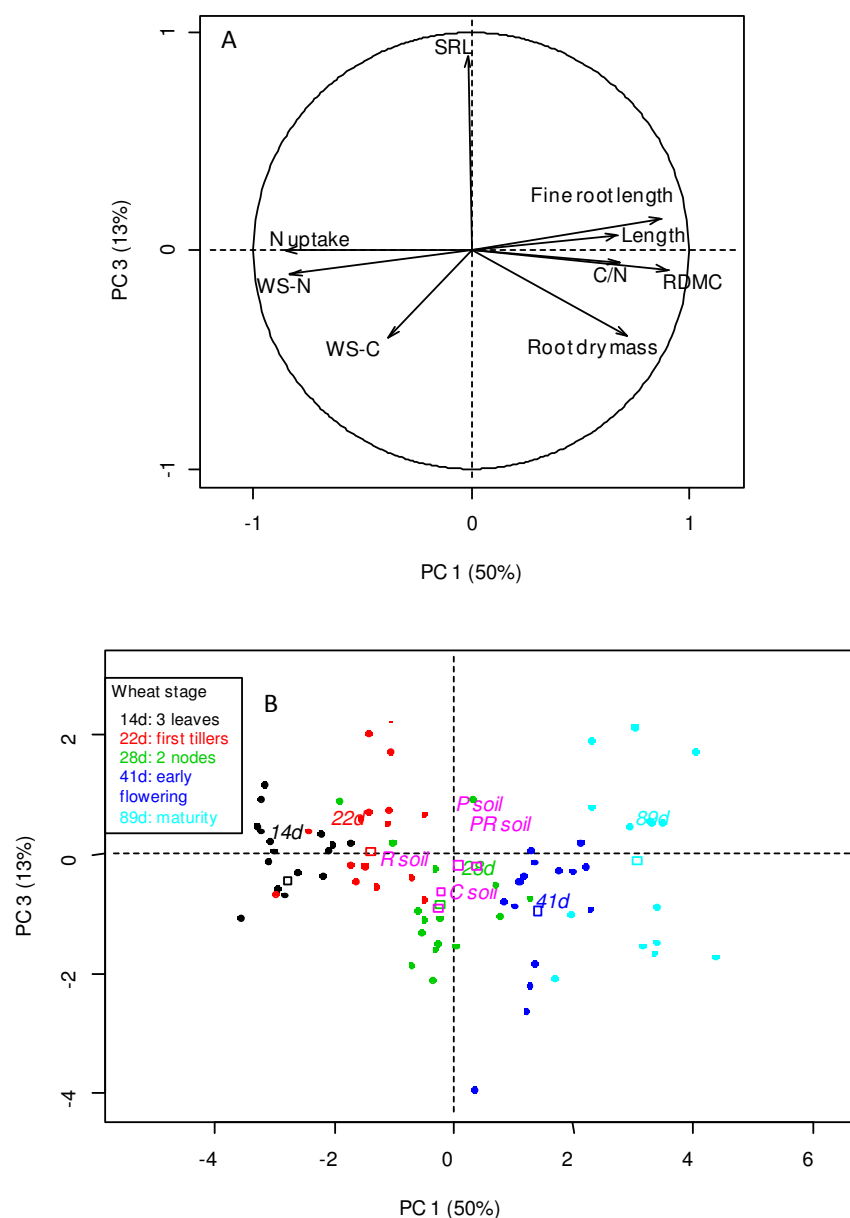


Figure 3 Comparison of root functional traits by Principal Component Analysis (A, correlation biplot and B, distance biplot) from 14 to 89 days after sowing. Axes 1 and 3 are presented. Axe 2 eigenvalue: 19%. Individuals are colored according to phenological stage. Squares (■) represent centroid of the phenological stage or soil treatment treatments. WS-C, water soluble C; WS-N, water soluble N; SRL, specific root length; RDMC, root dry matter content; C soil, control soil; R soil, soil amended with pea residues; P soil, soil previously cropped with pea; P+R soil, P soil amended with pea residues

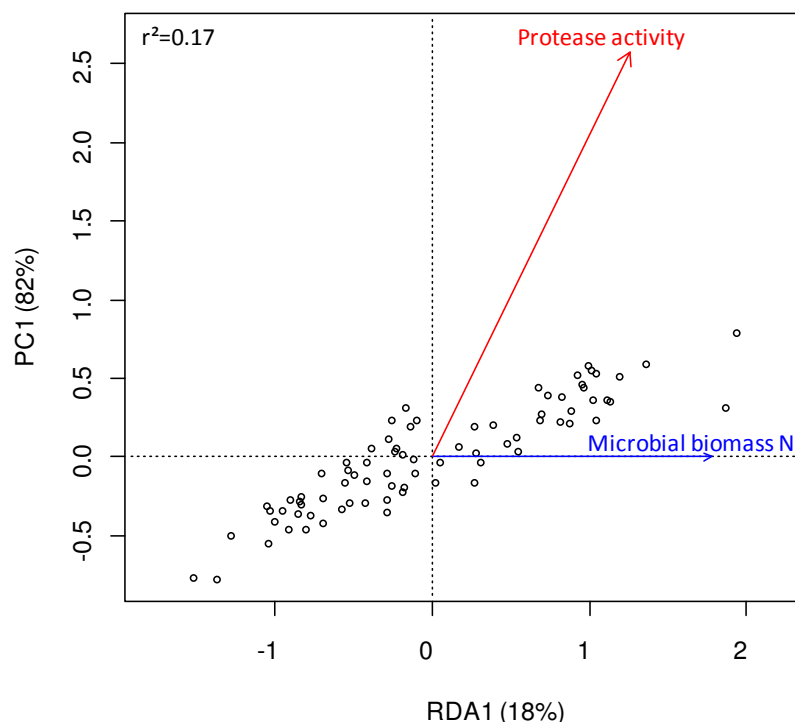


Figure 4 Redundancy analysis correlation biplots of protease activity in relation to soil variables. Only significant explanatory variables selected through a forward procedure are represented. Blue line is the explanatory soil variable, red line is protease activity (dependent variable). As only one dependent variable was selected, RDA was constructed with only one constrained ordination axis (RDA 1), the second axis being an unconstrained residual axis (PC 1). The RDA was significant at $P < 0.001$ and explained 17% of the variation

Regulation of protease activity

Including all treatments, mean values of potential protease activity were similar to those observed in other studies (Alef and Kleiner, 1987; Geisseler et al., 2012; Stark et al., 2008; Vranova et al., 2013). We evidenced that protease activity was significantly increased in soils amended with pea residues. The same level of protease activity was observed in both residues amended treatments *i.e.* whether residues were combined or not with pea rhizodeposits (R and P+R soils). In these treatments, after a significant increase at 3-leaf stage of wheat, potential protease activity was quite stable until decreasing at wheat maturity. By contrast, in control and pea rhizodeposits treatments (C and R soils), we showed that potential protease activity was low but changed significantly along wheat phenology, contrary to what is observed along pea phenology (Romillac et al., 2015). These results would confirm with the idea that protease activity are mainly regulated in soils by the availability of protein substrates (Geisseler and Horwath, 2008; Geisseler et al., 2009). Indeed, crop residues represent the major way

by which proteins enter into the soil (Jan et al., 2009; Jones et al., 2005), and, in particular in the case of pea residues that contain at least twice as much proteins than cereal residues (Jensen et al., 2012; Munier-Jolain and Salon, 2005). Despite a confounding effect of the wheat development cannot be ruled out, the increased protease activity seemed to be short lived. The increase in protease activity was detected 14 days after residues incorporation at stage 3 leaved and was still there at 41 days after residue incorporation (stage early flowering) but had disappeared at 89 days after residue incorporation (wheat maturity). This short term effect of the pea residues is in accordance with the fact that pea residues N mineralization is particularly fast when compared to other crops and occur primarily between the first 40-70 days after soil incorporation (Jensen, 1997; Lupwayi, 2006). We also observed that the presence of pea N rhizodeposits did not influence the induction of protease activity. It has been shown that these rhizodeposits are immobilized in microbial residues and represent a significant pool of labile organic N with a positive effect on net N mineralization (Gransee

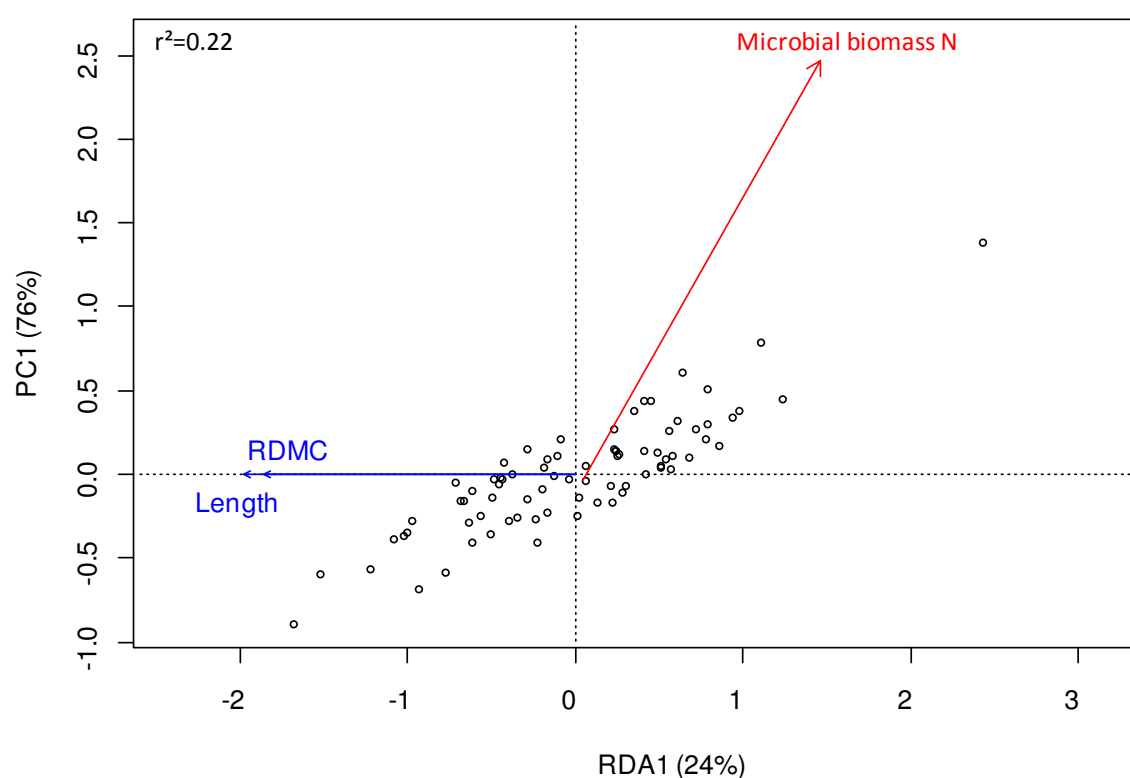


Figure 5 Redundancy analysis correlation biplots of microbial biomass N in relation to root functional traits. Only significant explanatory variables selected through a forward procedure are represented. Blue line are root functional traits (explanatory variable), red line is protease activity (dependent variable). RDMC: root dry matter content. The RDA was significant at $P < 0.001$ and explained 22% of the variation

Table 3 Average $\pm$ SEM of the root functional traits in the 4 soil treatments and along wheat phenology. Different letters indicate significant differences between means ($P < 0.05$). n: number of replicates. Soil treatments: C soil, control soil, R soil, soil amended with pea residues, P soil, soil previously cropped with pea, P+R soil, P soil amended with pea residues. Significance: n.s. = non significant., * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

	Soil treatments				Chi ²	Wheat development stage					Chi ²
	C	R	P	P+R		3 leaves	First tillers	2 nodes	Early flowering	Maturity	
n	19	20	19	20		16	16	16	16	16	
Root dry matter content (mg g ⁻¹)	189 $\pm$ 19	181 $\pm$ 13	172 $\pm$ 16	184 $\pm$ 15	0.82 n.s.	111 $\pm$ 2a	136 $\pm$ 3a	155 $\pm$ 4ab	209 $\pm$ 3b	302 $\pm$ 7c	71.8***
C/N	35.5 $\pm$ 5.8	35.4 $\pm$ 3.8	37.7 $\pm$ 6.3	49.3 $\pm$ 10.7	2.94 n.s.	23.5 $\pm$ 0.9a	25.5 $\pm$ 0.6a	27.3 $\pm$ 0.5ab	39.0 $\pm$ 1.3ab	83.3 $\pm$ 12.5b	62.9***
Water soluble C (%)	2.34 $\pm$ 0.19	1.94 $\pm$ 0.14	2.04 $\pm$ 0.16	1.80 $\pm$ 0.17	6.05 n.s.	2.04 $\pm$ 0.08ab	2.16 $\pm$ 0.13ab	2.46 $\pm$ 0.15a	2.09 $\pm$ 0.21ab	1.36 $\pm$ 0.25b	17.4**
Water soluble N (%)	0.42 $\pm$ 0.05	0.39 $\pm$ 0.06	0.37 $\pm$ 0.04	0.27 $\pm$ 0.03	5.50 n.s.	0.58 $\pm$ 0.03b	0.47 $\pm$ 0.07b	0.43 $\pm$ 0.04b	0.22 $\pm$ 0.03a	0.11 $\pm$ 0.03a	54.4***
Length (m)	14.3 $\pm$ 16.0	14.2 $\pm$ 1.5	17.5 $\pm$ 1.9	15.5 $\pm$ 1.4	1.95 n.s.	6.61 $\pm$ 0.46a	12.6 $\pm$ 0.9ab	18.1 $\pm$ 1.3bc	21.6 $\pm$ 1.8cd	18.0 $\pm$ 1.3bcd	45.0***
Fine roots length (%)	64 $\pm$ 3.4	63 $\pm$ 2.6	64 $\pm$ 2.9	64 $\pm$ 2.6	0.07 n.s.	47 $\pm$ 1.1a	61 $\pm$ 1.1b	60 $\pm$ 1.3b	72 $\pm$ 1.1bc	83 $\pm$ 0.8c	68.7***
Root dry mass (mg)	71.8 $\pm$ 7.2	72.3 $\pm$ 7.2	76.7 $\pm$ 8.0	72.1 $\pm$ 6.8	0.12 n.s.	32.9 $\pm$ 2.5a	54.3 $\pm$ 3.8ab	87.0 $\pm$ 6.4bc	107.4 $\pm$ 5.0c	83.8 $\pm$ 3.3b	56.5***
Specific root length (m g ⁻¹)	19.9 $\pm$ 0.8a	20.3 $\pm$ 1.2ab	23.0 $\pm$ 0.9b	22.0 $\pm$ 0.9ab	8.91*	20.4 $\pm$ 0.6	23.5 $\pm$ 1.1	21.2 $\pm$ 0.7	20.0 $\pm$ 1.3	21.6 $\pm$ 1.7	4.4 n.s.
N uptake (mgN mg ⁻¹ root d ⁻¹)	0.49 $\pm$ 0.07	0.53 $\pm$ 0.09	0.44 $\pm$ 0.07	0.42 $\pm$ 0.06	0.76 n.s.	0.83 $\pm$ 0.06c	0.75 $\pm$ 0.03c	0.36 $\pm$ 0.05b	0.35 $\pm$ 0.03b	0.05 $\pm$ 0.01a	61.4***

and Wittenmayer, 2000; Jensen, 1996; Mayer et al., 2004). As microbial residues consist mainly of polymers including proteins (Geisseler et al., 2012), we could have expected that these compounds would be additional substrates for proteases. Then, the lack of induction of protease activity in response to pea rhizodeposits suggest that potential protease activity in soils is not only regulated by the availability of protein substrates but could also depend of the quality of the protein substrates (Jan et al., 2009). In pure culture studies, it has been shown that microbial extracellular proteases can present broad or narrow substrates specificity (Gao et al., 2013; Waghmare, 2015). However, even if microbial proteases constitute one of the most important groups of hydrolytic enzymes, little is actually known about the functionalities of soil proteases and, in particular how the large diversity of soil proteins influences their activities (Bach et al., 2002; Fuka et al., 2008; Gupta et al., 2002, Jan et al., 2009; Sakurai et al., 2007). More works are needed to have a better understanding of mechanisms contributing to protease regulation in soils.

Relative effects of plant root traits and soil properties on potential protease activity

Based on RDA analysis, root traits have no contribution to variation in potential protease activity, likely because this activity was only influenced by the presence of residues. These results are in accordance with previous study of Legay et al. (2014) showing that plant traits have no direct effects on microbial activities implicated in N mineralization such as nitrification. However, plant traits could have indirect

effects on potential protease activity through their impact on C and N bioavailability and soil microbial biomass (Legay et al., 2014; Orwin et al., 2010; Romillac et al., 2015; de Vries et al., 2012). We observed that potential protease activity was positively related to MBN. This observation is in accordance with those of Asmar et al. (1992) and Geisseler and Horwath (2008). Furthermore, we found that MBN was negatively associated with total root length and RDMC. Such relationships between RDMC and nitrifier gene abundance have already been observed (Legay et al., 2014). As, RDMC and total root length are known to be linked to soil nutrient availability (Perez-Ramos et al., 2012; Birouste et al., 2014), the relationships between RDMC / total root length and MBN could result from changes in soil bioavailable C and N. In particular, in soils amended with pea residues in which potential protease activity was significantly increased, we found that the C/N ratio of soil soluble fractions was higher than the C/N ratio observed in control and pea rhizodeposits amended soils (data not shown). This higher C/N ratio could create N limiting conditions and microbes may benefit from producing enzymes to obtain it (Allison and Vitousek, 2005; Fornara et al., 2011). The moderate contribution of MBN to explain variation in potential protease activity (22% of the variation) suggests also that only a fraction of protease activity in soil is produced constitutively by soil microorganisms. This result reinforced our hypothesis that the increase in protease activity observed in residue amended soils is mainly due to substrate induction. The increase of protease activity between stages first tillers and stages early flowering could be also due to substrate induction due to release of structural compound such as protein by the decaying roots of the wheat (van Noordwijk et al., 1994). The regulation of protease activity allows soil microorganisms to mobilize complex N resources from residues to meet their needs.

Conclusion

The results of this study show that the production of potential protease activities in the presence of substrates is mostly decoupled from the growth of microbial biomass. Therefore, substrate induction seems to be the dominant mechanism that regulates protease synthesis. Our results highlight that root traits have a moderate contribution in the variation of protease activity, through their influence on N microbial biomass. The impact of root traits seemed to be related to variations in C and N availability for soil microorganisms. More works are needed to evaluate whether the observed effects are confirmed considering different soils and plant species. Additional studies are also needed to analyze the influence of substrate quality (i.e. proteins) on soil protease activity.

References

- Alef, K., Kleiner, D., 1987. Applicability of arginine ammonification as indicator of microbial activity in different soils. *Biology and Fertility of Soils* 5, 148–151.
- Allison, S.D., Vitousek, P.M., 2005. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 937–944. doi:10.1016/j.soilbio.2004.09.014
- Arcand, M.M., Knight, J.D., Farrell, R.E., 2014. Differentiating between the supply of N to wheat from above and belowground residues of preceding crops of pea and canola. *Biology and Fertility of Soils* 50, 563–570. doi:10.1007/s00374-013-0877-4
- Arcand, M.M., Knight, J.D., Farrell, R.E., 2013. Estimating belowground nitrogen inputs of pea and canola and their contribution to soil inorganic N pools using ¹⁵N labeling. *Plant and Soil* 371, 67–80. doi:10.1007/s11104-013-1626-z
- Arsenault, J.-L., Pouleur, S., Messier, C., Guay, R., 1995. WinRHIZO™, a root-measuring system with a unique overlap correction method. *HortScience* 30, 906.
- Asmar, F., Eiland, F.I., Nielsen, N.E., 1992. Interrelationship between extracellular enzyme activity, ATP content, total counts of bacteria and CO₂ evolution. *Biology and Fertility of Soils* 14, 288–292.
- Averill, C., Finzi, A., 2011. Plant regulation of microbial enzyme production in situ. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 2457–2460. doi:10.1016/j.soilbio.2012.10.023
- Bach, H., Tomanova, J., Schlöter, M., Munch, J.C., 2002. Enumeration of total bacteria and bacteria with genes for proteolytic activity in pure cultures and in environmental samples by quantitative PCR mediated amplification. *Journal of Microbiological Methods* 49, 235–245.
- Bardgett, R.D., Mommer, L., De Vries, F.T., 2014. Going underground: Root traits as drivers of ecosystem processes. *Trends in Ecology and Evolution* 29, 692–699. doi:10.1016/j.tree.2014.10.006
- Beckie, H.J., Brandt, S.A., 1997. Nitrogen contribution of field pea in annual cropping systems .1. Nitrogen residual effect. *Canadian Journal Of Plant Science* 77, 311–322.
- Beg, Q.K., Saxena, R.K., Gupta, R., 2002. De-repression and subsequent induction of protease synthesis by *Bacillus mojavensis* under fed-batch operations. *Process Biochemistry* 37, 1103–1109. doi:10.1016/S0032-9592(01)00320-X
- Bell, C.W., Asao, S., Calderon, F., Wolk, B., Wallenstein, M.D., 2015. Plant nitrogen uptake drives rhizosphere bacterial community assembly during plant growth. *Soil Biology and Biochemistry* 85, 170–182. doi:10.1016/j.soilbio.2015.03.006
- Birouste, M., Zamora-Iedeza, E., Bossard, C., Pérez-ramos, I.M., Roumet, C., 2014. Measurement of fine root tissue density : a comparison of three methods reveals the potential of root dry matter content. *Plant and Soil* 374, 299–313. doi:10.1007/s11104-013-1874-y
- Brookes, P.C., Kragt, J.F., Powlson, D.S., Jenkinson, D.S., 1985. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen - the effects of fumigation time and temperature. *Soil Biology and Biochemistry* 17, 831–835. doi:10.1016/0038-0717(85)90143-9
- De Graaff, M.A., Classen, A.T., Castro, H.F., Schadt, C.W., 2010. Labile soil carbon inputs mediate the soil microbial community composition and plant residue decomposition rates. *New Phytologist* 188, 1055–1064. doi:10.1111/j.1469-8137.2010.03427.x
- De Vries, F.T., Bardgett, R.D., 2012. Plant-microbial linkages and ecosystem nitrogen retention: Lessons for sustainable agriculture. *Frontiers in Ecology and the Environment* 10, 425–432. doi:10.1890/110162
- DeAngelis, K.M., Lindow, S.E., Firestone, M.K., 2008. Bacterial quorum sensing and nitrogen cycling in rhizosphere soil. *FEMS Microbiology Ecology* 66, 197–207. doi:10.1111/j.1574-6941.2008.00550.x
- Dijkstra, F. a., Carrillo, Y., Pendall, E., Morgan, J. a., 2013. Rhizosphere priming: A nutrient perspective. *Frontiers in Microbiology* 4, 1–8. doi:10.3389/fmicb.2013.00216

-
- Eissenstat, D.M., 1992. Costs and benefits of constructing roots of small diameter. *Journal of Plant Nutrition* 15, 763–782. doi:10.1080/01904169209364361
- Ezekiel, M., 1930. *Methods of correlational analysis*. Wiley, New York.
- Fornara, D.A., Bardgett, R., Steinbeiss, S., Zak, D.R., 2011. Plant effects on soil N mineralization are mediated by the composition of multiple soil organic fractions. *Ecological Research* 201–208. doi:10.1007/s11284-010-0777-0
- Fuka, M.M., Engel, M., Gatteringer, A., Bausenwein, U., Sommer, M., Munch, J.C., Schloter, M., 2008. Factors influencing variability of proteolytic genes and activities in arable soils. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 1646–1653. doi:10.1016/j.soilbio.2008.01.028
- Gan, Y., Campbell, C. a., Janzen, H.H., Lemke, R.L., Basnyat, P., McDonald, C.L., 2010. Nitrogen accumulation in plant tissues and roots and N mineralization under oilseeds, pulses, and spring wheat. *Plant and Soil* 332, 451–461. doi:10.1007/s11104-010-0312-7
- Gao, X., Cui, W., Tian, Y., Zhou, Z., 2013. Over-expression, secretion, biochemical characterisation, and structure analysis of *Bacillus subtilis* aminopeptidase. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 93, 2810–2815. doi:10.1002/jsfa.6105
- Geisseler, D., Horwath, W.R., 2008. Regulation of extracellular protease activity in soil in response to different sources and concentrations of nitrogen and carbon. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 3040–3048. doi:10.1016/j.soilbio.2008.09.001
- Geisseler, D., Joergensen, R.G., Ludwig, B., 2012. Potential soil enzyme activities are decoupled from microbial activity in dry residue-amended soil. *Pedobiologia* 55, 253–261. doi:10.1016/j.pedobi.2012.04.003
- Giraudeau, P., 2013. pgirmess: Data analysis in ecology. R package version 1.5.8.
- Gransee, A., Wittenmayer, L., 2000. Qualitative and quantitative analysis of water-soluble root exudates in relation to plant species and development. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 163, 381–385. doi:10.1002/1522-2624(200008)163:4<381::AID-JPLN381>3.0.CO;2-7
- Grigulis, K., Lavorel, S., Krainer, U., Legay, N., Baxendale, C., Dumont, M., Kastl, E., Arnoldi, C., Bardgett, R.D., Poly, F., Pommier, T., Schloter, M., Tappeiner, U., Bahn, M., Clément, J.-C., 2013. Relative contributions of plant traits and soil microbial properties to mountain grassland ecosystem services. *Journal of Ecology* 101, 47–57. doi:10.1111/1365-2745.12014
- Gupta, R., Beg, Q.K., Lorenz, P., 2002. Bacterial alkaline proteases : molecular approaches and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology* 59, 15–32. doi:10.1007/s00253-002-0975-y
- Husson, F., Josse, J., Lê, S., 2015. Package “RcmdrPlugin.FactoMineR” v1.5-0.
- Jan, M.T., Roberts, P., Tonheim, S.K., Jones, D.L., 2009. Protein breakdown represents a major bottleneck in nitrogen cycling in grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 2272–2282. doi:10.1016/j.soilbio.2009.08.013
- Jensen, E.S., 1997. Nitrogen immobilization and mineralization during initial decomposition of ¹⁵N-labelled pea and barley residues. *Biology and Fertility of Soils* 24, 39–44.
- Jensen, E.S., 1996. Rhizodeposition of N by pea and barley and its effect on soil N dynamics. *Soil Biology and Biochemistry* 28, 65–71.
- Jensen, E.S., Peoples, M.B., Boddey, R.M., Gresshoff, P.M., Henrik, H.N., Alves, B.J.R., Morrison, M.J., 2012. Legumes for mitigation of climate change and the provision of feedstock for biofuels and biorefineries. A review, *Agronomy for Sustainable Development*. doi:10.1007/s13593-011-0056-7
- Jones, D.L., Healey, J.R., Willett, V.B., Farrar, J.F., Hodge, A., 2005. Dissolved organic nitrogen uptake by plants — an important N uptake pathway ? *Soil Biology and Biochemistry* 37, 413–423. doi:10.1016/j.soilbio.2004.08.008
- Jones, D.L., Shannon, D., Murphy, D. V, Farrar, J., 2004. Role of dissolved organic nitrogen (DON) in soil N cycling in grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 749–756. doi:10.1016/j.soilbio.2004.01.003

- Klumpff, K., Fontaine, S., Attard, E., Le Roux, X., Gleixner, G., Soussana, J.-F., 2009. Grazing triggers soil carbon loss by altering plant roots and their control on soil microbial community. *Journal of Ecology* 97, 876–885. doi:10.1111/j.1365-2745.2009.01549.x
- Kögel-Knabner, I., 2002. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 34, 139–162.
- Kuzyakov, Y., 2010. Priming effects: Interactions between living and dead organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 1363–1371. doi:10.1016/j.soilbio.2010.04.003
- Kuzyakov, Y., Xu, X., 2013. Competition between roots and microorganisms for nitrogen: mechanisms and ecological relevance. *New Phytologist* 198, 656–669. doi:10.1111/nph.12235
- Ladd, J.N., Butler, J.H.A., 1972. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biology and Biochemistry* 4, 19–30. doi:10.1016/0038-0717(72)90038-7
- Legay, N., Baxendale, C., Grigulis, K., Krainer, U., Kastl, E., Schloter, M., Bardgett, R.D., Arnoldi, C., Bahn, M., Dumont, M., Poly, F., Pommier, T., Clement, J.C., Lavorel, S., 2014. Contribution of above- and below-ground plant traits to the structure and function of grassland soil microbial communities. *Annals of Botany* 114, 1011–1021. doi:10.1093/aob/mcu169
- Legendre, P., Legendre, L., 1998. *Numerical Ecology*. Second English Edition, second ed. ed. Elsevier Science B.V., Amsterdam.
- Lupwayi, N.Z., Clayton, G.W., O'Donovan, J.T., Harker, K.N., Turkington, T.K., Soon, Y.K., 2006. Nitrogen release during decomposition of crop residues under conventional and zero tillage. *Canadian Journal of Soil Science* 86, 11–19. doi:10.1016/j.still.2007.01.007
- Manzoni, S., Jackson, R.B., Trofymow, J. a, Porporato, A., 2008. The global stoichiometry of litter nitrogen mineralization. *Science* 321, 684–686. doi:10.1126/science.1159792
- Mayer, J., Buegger, F., Jensen, E.S., Schloter, M., Heß, J., 2004. Turnover of grain legume N rhizodeposits and effect of rhizodeposition on the turnover of crop residues. *Biology and Fertility of Soils* 39, 153–164. doi:10.1007/s00374-003-0694-2
- Mayer, J., Buegger, F., Jensen, E.S., Schloter, M., Heß, J., 2003. Residual nitrogen contribution from grain legumes to succeeding wheat and rape and related microbial process. *Plant and Soil* 255, 541–554.
- Munier-Jolain, N.G., Salon, C., 2005. Are the carbon costs of seed production related to the quantitative and qualitative performance? An appraisal for legumes and other crops. *Plant, Cell and Environment* 28, 1388–1395. doi:10.1111/j.1365-3040.2005.01371.x
- Nelson, J.A., Lym, R.G., 2003. Interactive effects of *Aphthona nigriscutis* and picloram plus 2,4-D in leafy spurge (*Euphorbia esula*). *Weed Science* 51, 118–124. doi:10.1614/0043-1745(2003)051[0118:IEOANA]2.0.CO;2
- Nguyen, C., 2003. Rhizodeposition of organic C by plants : mechanisms and controls. *Agronomie* 23, 375–396. doi:10.1051/agro
- Nguyen, C., Henry, F., 2002. A carbon-14-glucose assay to compare microbial activity between rhizosphere samples. *Biology and Fertility of Soils* 35, 270–276. doi:10.1007/s00374-002-0464-6
- Nicolardot, B., Recous, S., Mary, B., 2001. Simulation of C and N mineralisation during crop residue decomposition: A simple dynamic model based on the C:N ratio of the residues. *Plant and Soil* 228, 83–103. doi:10.1023/A:1004813801728
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P.R., O'Hara, R.B., Simpson, G.L., Peter Solymos, M., Stevens, H.H., Wagner, H., 2013. *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.0-9.
- Orwin, K.H., Buckland, S.M., Johnson, D., Turner, B.L., Smart, S., Oakley, S., Bardgett, R.D., 2010. Linkages of plant traits to soil properties and the functioning of temperate grassland. *Journal of Ecology* 98, 1074–1083. doi:10.1111/j.1365-2745.2010.01679.x
- Pascual, N., Ranjard, L., Kaisermann, A., Bachar, D., Christen, R., Terrat, S., Mathieu, O., Lévêque, J., Mougel, C., Henault, C., Lemanceau, P., Péan, M., Boiry, S., Fontaine, S., Maron, P.A., 2013. Stimulation of different

-
- functional groups of bacteria by various plant residues as a driver of soil priming effect. *Ecosystems* 16, 810–822. doi:10.1007/s10021-013-9650-7
- Pérez-ramos, I.M., Roumet, C., Cruz, P., Blanchard, A., Autran, P., Garnier, E., 2012. Evidence for a “ plant community economics spectrum ” driven by nutrient and water limitations in a Mediterranean rangeland of southern France. *Journal of Ecology* 100, 1315–1327. doi:10.1111/1365-2745.12000
- Phillips, R.P., Finzi, A.C., Bernhardt, E.S., 2011. Enhanced root exudation induces microbial feedbacks to N cycling in a pine forest under long-term CO₂ fumigation. *Ecology Letters* 14, 187–194. doi:10.1111/j.1461-0248.2010.01570.x
- Piegholdt, C., Geisseler, D., Koch, H.J., Ludwig, B., 2013. Long-term tillage effects on the distribution of phosphorus fractions of loess soils in Germany. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 176, 217–226. doi:10.1002/jpln.201200393
- Powell, J.R., Anderson, I.C., Rillig, M.C., 2013. A new tool of the trade: plant-trait based approaches in microbial ecology. *Plant and Soil* 365, 35–40. doi:10.1007/s11104-012-1581-0
- Romillac, N., Piutti, S., Amiaud, B., Slezacek-Deschaumes, S., 2015. Influence of pea root traits modulating soil bioavailable C and N effects upon ammonification activity. *Soil Biology and Biochemistry* 90, 148–151.
- R Core Team, 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>
- Sakurai, M., Suzuki, K., Onodera, M., Shinano, T., Osaki, M., 2007. Analysis of bacterial communities in soil by PCR – DGGE targeting protease genes. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2777–2784. doi:10.1016/j.soilbio.2007.05.026
- Soon, Y.K., Arshad, M.A., 2002. Comparison of the decomposition and N and P mineralization of canola, pea and wheat residues. *Biology and Fertility of Soils* 36, 10–17. doi:10.1007/s00374-002-0518-9
- Stark, C.H., Condon, L.M., Callaghan, M.O., Stewart, A., Di, H.J., 2008. Differences in soil enzyme activities , microbial community structure and short-term nitrogen mineralisation resulting from farm management history and organic matter amendments. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 1352–1363. doi:10.1016/j.soilbio.2007.09.025
- Stevenson, F.C., van Kessel, C., 1996. A landscape-scale assessment of the nitrogen and non-nitrogen benefits of pea in a crop rotation. *Soil Science Society of America Journal* 60, 1797–1805.
- Van Noordwijk, M., Brouwer, G., Koning, H., Mijboom, F.W., Grzebisz, W., 1994. Production and decay of structural root material of winter wheat and sugar beet in conventional and integrated cropping systems. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 51, 99–113. doi:http://dx.doi.org/10.1016/0167-8809(94)90037-X
- Vance, E.D., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass-C. *Soil Biology and Biochemistry* 19, 703–707. doi:10.1016/0038-0717(87)90052-6
- Vranova, V., Rejsek, K., Formanek, P., 2013. Proteolytic activity in soil : A review. *Applied Soil Ecology* 70, 23–32. doi:10.1016/j.apsoil.2013.04.003
- Waghmare, S.R., Gurav, A. a, Mali, S. a, Nadaf, N.H., Jadhav, D.B., Sonawane, K.D., 2015. Purification and characterization of novel organic solvent tolerant 98kDa alkaline protease from isolated *Stenotrophomonas maltophilia* strain SK. *Protein Expression and Purification* 107, 1–6. doi:10.1016/j.pep.2014.11.002
- York, L.M., Nord, E. a, Lynch, J.P., 2013. Integration of root phenes for soil resource acquisition. *Frontiers in Plant Science* 4, 355. doi:10.3389/fpls.2013.00355
- Yuan, L., Bao, D.J., Jin, Y., Yang Y.H., Huang, J.G., 2011. Influence of fertilizers on nitrogen mineralization and utilization in the rhizosphere of wheat. *Advances in Agronomy* 343, 187–193. doi:10.1007/s11104-010-0640-7
- Zhu, B., Gutknecht, J.L.M., Herman, D.J., Keck, D.C., Firestone, M.K., Cheng, W., 2014. Rhizosphere priming effects on soil carbon and nitrogen mineralization. *Soil Biology and Biochemistry* 76, 183–192. doi:10.1016/j.soilbio.2014.04.033

Résumé du Chapitre 3

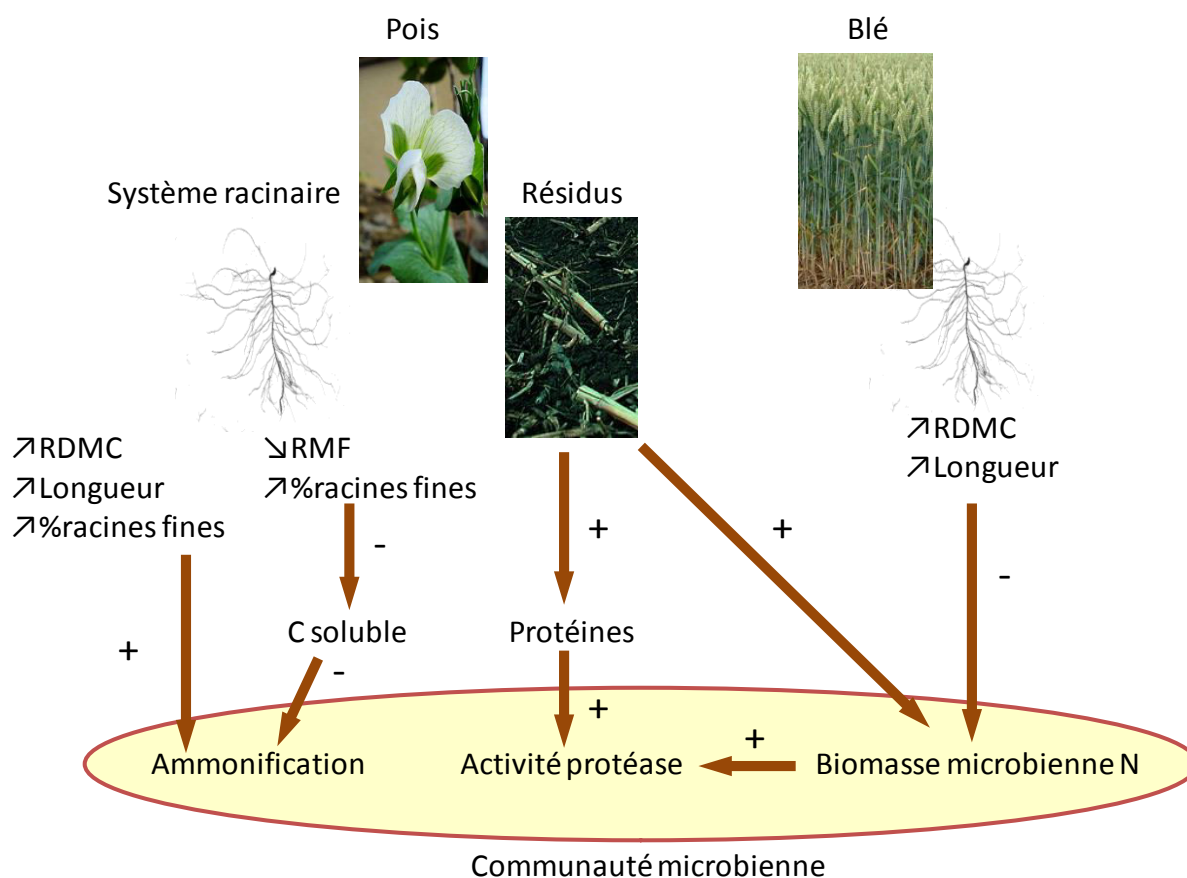


Figure 1 Schéma représentant les effets du pois et du blé sur les activités potentielles protéase et d'ammonification mis en évidence dans notre étude. RDMC : teneur racinaire en matière sèche ; RMF : fraction de masse racinaire

L'expérimentation en conditions contrôlées a permis de mieux comprendre l'effet du pois et du blé sur deux activités microbiennes impliquées dans la décomposition – minéralisation de N (Figure 1). Nous avons notamment mis en évidence l'influence directe et/ou indirecte de certains traits racinaires en lien avec l'acquisition de N et la rhizodéposition sur ces activités microbiennes.

Ainsi, concernant l'activité potentielle d'ammonification, celle-ci varie au-cours du développement du pois, avec une activité plus importante aux stades reproducteurs du pois, où le pois présente de forts besoins en N (Salon et al., 2001 ; Voisin et al., 2007). Ces variations de l'activité d'ammonification sont expliquées par une combinaison de traits racinaires liés à la croissance ou l'acquisition de N et la rhizodéposition tels que le RDMC, le RMF, le pourcentage et la longueur de racines fines. Ces traits influencent soit directement, soit indirectement via le pool de C soluble du sol, l'activité potentielle d'ammonification.

Nous avons suggéré que l'augmentation de l'activité d'ammonification aux stades reproducteurs du pois est corrélée à une diminution de la teneur du sol en carbone soluble et à la modification du profil de rhizodéposition du pois (libération d'acides aminés). La diminution de la teneur en carbone soluble du sol conduirait à une limitation des microorganismes en carbone (Kopacek et al., 2013 ; Jones and Murphy, 2007 ; Farrell et al., 2014). Les microorganismes utiliseraient alors les acides aminés libérés par le processus de rhizodéposition afin de répondre à leurs besoins en carbone. L'azote minéral ainsi libéré serait alors disponible pour la plante.

Nous avons observé que l'activité potentielle protéase, contrairement à l'activité d'ammonification ne varie pas au cours du développement du pois et évolue faiblement au cours du développement du blé. En revanche, cette activité était fortement stimulée par l'enfouissement des résidus du pois. L'induction de l'activité protéase en réponse à l'apport de résidus est corrélée à une augmentation de la biomasse microbienne azotée.

Aucun des traits fonctionnels racinaires mesurés n'ont permis d'expliquer les variations d'activité protéase. En revanche, nous avons montré que les traits racinaires influencent indirectement l'activité protéase via leurs effets sur la biomasse microbienne azotée. Ainsi, la biomasse microbienne azotée est influencée par le RDMC et la longueur racinaire. Néanmoins, nous avons observé que les variations de la biomasse microbienne azotée n'expliquent qu'une part modérée des variations de l'activité protéase au cours du développement du pois. La synthèse des protéases est donc majoritairement découplée de la croissance de la biomasse microbienne. Les variations d'activité protéase au cours du développement du blé semblent donc plus probablement contrôlées par les disponibilités relatives en carbone et azote soluble du sol et par la disponibilité en substrat.

Ces résultats suggèrent des différences de régulation des activités protéase et d'ammonification. Tandis que l'ammonification semble contrôlée par la disponibilité relative en carbone et en azote soluble (Geisseler et al., 2010), la synthèse des protéases semble aussi conditionnée par la présence d'un substrat (Geisseler et Horwath, 2008).

La mesure de traits fonctionnels racinaires permet d'améliorer la compréhension des interactions plantes-microorganismes. Néanmoins, les traits fonctionnels racinaires n'expliquaient qu'une fraction de la variation des activités enzymatiques. D'autres traits fonctionnels comme par exemple les traits fonctionnels aériens pourraient être pris en compte. De plus, ces études réalisées en microcosme, ne prennent pas en compte l'ensemble des facteurs qui peuvent structurer les communautés microbiennes et modifier leurs activités enzymatiques. Il est donc important d'analyser le fonctionnement des communautés microbiennes en conditions de plein champ.

Références

- Farrell, M., Prendergast-Miller, M., Jones, D.L., Hill, P.W., Condron, L.M., 2014. Soil microbial organic nitrogen uptake is regulated by carbon availability. *Soil Biology and Biochemistry* 77, 261–267. doi:10.1016/j.soilbio.2014.07.003
- Geisseler, D., Horwath, W.R., 2008. Regulation of extracellular protease activity in soil in response to different sources and concentrations of nitrogen and carbon. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 3040–3048. doi:10.1016/j.soilbio.2008.09.001
- Geisseler, D., Horwath, W.R., Joergensen, R.G., Ludwig, B., 2010. Pathways of nitrogen utilization by soil microorganisms - A review. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 2058–2067. doi:10.1016/j.soilbio.2010.08.021
- Jones, D.L., Murphy, D.V., 2007. Microbial response time to sugar and amino acid additions to soil. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2178–2182. doi:10.1016/j.soilbio.2007.03.017
- Kopáček, J., Cosby, B.J., Evans, C.D., Hruška, J., Moldan, F., Oulehle, F., Šantrůčková, H., Tahovská, K., Wright, R.F., 2013. Nitrogen, organic carbon and sulphur cycling in terrestrial ecosystems: linking nitrogen saturation to carbon limitation of soil microbial processes. *Biogeochemistry* 115, 33–51. doi:10.1007/s10533-013-9892-7
- Salon, C., Munier-Jolain, N.G., Duc, G., Voisin, A., Grandgirard, D., Larmure, A., Emery, R.J.N., Ney, B., 2001. Grain legume seed filling in relation to nitrogen acquisition : A review and prospects with particular reference to pea. *Agronomie* 21, 539–552.
- Voisin, A.-S., Bourion, V., Duc, G., Salon, C., 2007. Using an ecophysiological analysis to dissect genetic variability and to propose an ideotype for nitrogen nutrition in pea. *Annals of Botany* 100, 1525–1536. doi:10.1093/aob/mcm241

Chapitre 4. Effet en conditions réelles de l'introduction du pois dans une rotation de céréales et colza sur les communautés microbiennes et les adventices

Introduction

Les plantes cultivées agissent comme des filtres pour les autres communautés (microbiennes, végétales et autres) qui vivent dans les agroécosystèmes. Selon leurs caractéristiques écologiques, elles modifient le milieu en capturant (interception de la lumière, prélèvement des nutriments et de l'eau) ou libérant (rhizodéposition, litière racinaire) des ressources au-cours de leur cycle de développement, mais également sur des durées plus longues, au travers de l'enfouissement de leurs résidus et de reliquats de nutriments (N, S...) sous forme minérale. Elles déterminent également la nature (type d'herbicides, de travail du sol) et la date (au-travers de la date de semis, de la date de récolte) des pratiques agricoles, dont certaines sont assimilables à des perturbations.

L'ensemble de ces modifications influencent la composition des communautés végétales et microbiennes, les communautés d'adventices étant plus sensibles à la disponibilité en lumière et en éléments minéraux ainsi qu'aux perturbations susceptibles de les détruire et les communautés microbiennes étant plus sensibles à la disponibilité en nutriments organiques et minéraux. A leur tour, les modifications des communautés végétales et microbiennes sont susceptibles d'entraîner des modifications des fonctions écosystémiques, comme la compétition entre la culture et ses adventices et la minéralisation de la matière organique.

Comparé à d'autres plantes cultivées comme le colza ou les céréales d'hiver, le pois de printemps a un cycle de développement court, est relativement peu compétitif pour la lumière (Kostrzewska et al., 2012 ; Seibutis et Deveikyte, 2006), n'est pas fertilisé en azote et prélève peu d'azote minéral dans les sols mais présente des besoins en soufre intermédiaire entre ceux du colza et ceux des céréales. Il produit peu de résidus et de rhizodépôts (Swinnen, 1994 ; Carrouée et al., 1999 ; Gan et al., 2009) mais ceux-ci ont des teneurs en azote et en soufre supérieure à ceux des céréales (Jensen, 1996, 1997 ; Soon et Arshad, 2002 ; Wichern et al., 2008 ; Gan et al., 2011 ; Arcand et al., 2013, Churka Blum et al., 2013) qui les rend facilement dégradables pour les microorganismes. Sur le plan des perturbations, il se différencie surtout par sa date de semis mais aussi par les familles d'herbicides utilisables, différentes de celles utilisables sur céréales. **Le pois est donc susceptible d'entraîner des modifications de l'abondance et de la composition des communautés adventices et microbiennes impliqués dans la minéralisation de l'azote et du soufre, pouvant modifier le niveau de compétition entre les cultures et les adventices ainsi que la minéralisation nette d'azote et de soufre (Figure 1).**

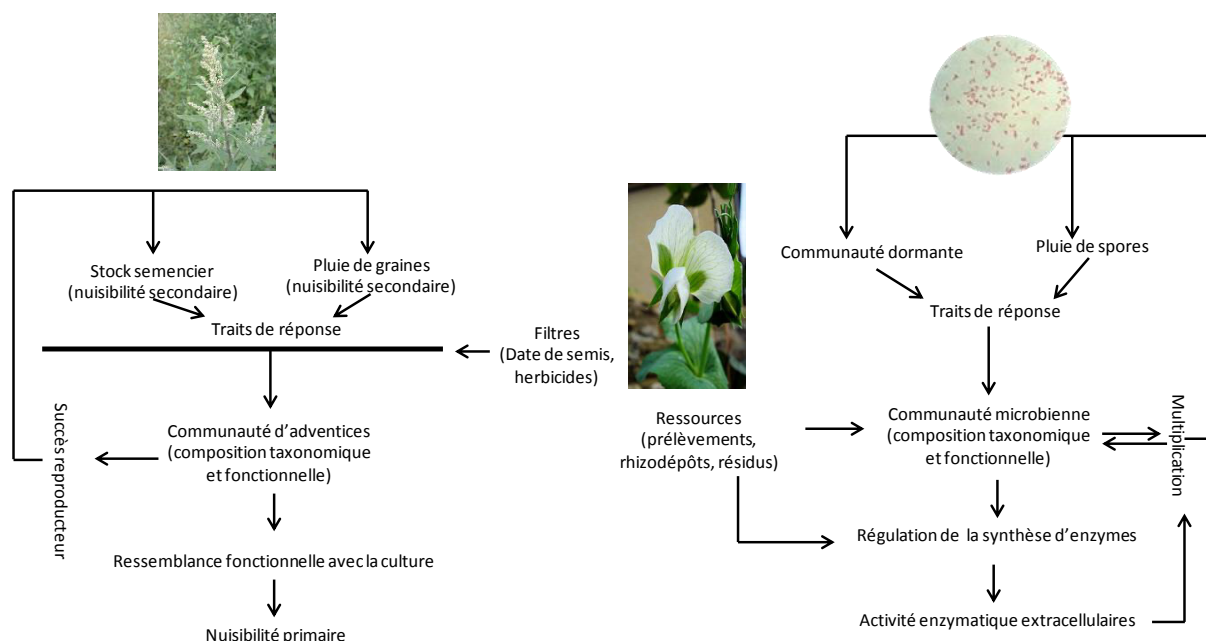


Figure 1 Schéma conceptuel de l'effet du pois sur les communautés microbiennes et végétales adventices

Au chapitre précédent nous avons mis en évidence l'effet du pois sur les abondances bactériennes et sur l'activité protéase, au cours de son développement et sous la culture de blé suivante. Cet effet résulte principalement des modifications de la disponibilité en C et N pour les communautés microbiennes. Ces résultats concernant l'effet de l'introduction du pois dans une rotation et son arrière-effet sur la culture suivante ont été obtenus en conditions contrôlées. L'allocation de carbone au système racinaire peut être différente entre les conditions contrôlées et les conditions naturelles au champ (Wichern et al., 2007). De plus, la sphère d'influence du système racinaire pour des cultures en conditions contrôlées est nettement supérieure du fait de la limitation du volume de sol. Dans ces conditions, les effets rhizosphère peuvent être exacerbés par rapport à la situation en conditions naturelles. Les relations peuvent être également différentes au champ en raison de la variabilité de température et de pluviométrie, qui peut conduire à des observations contrastées d'année en année (Schjonning et al., 2007 ; Yin et al., 2010 ; Vaughn et Young, 2010 ; Liu et al., 2010 ; Reardon et al., 2014). L'effet de filtres environnementaux tels que le climat et les conditions édaphiques sur les communautés microbiennes, ainsi que leurs interactions avec des espèces végétales de durée de cycle et avec des exigences en nutriments variables sont mal connues notamment à une échelle locale comme celle de la parcelle agricole. Afin de mieux comprendre les effets de l'introduction du pois dans un système de culture, il est donc nécessaire d'évaluer en conditions naturelles, d'une part ses effets en comparaison d'autres cultures et, d'autre part, ses arrière-effets sur l'abondance et les activités des communautés microbiennes. Les différentes cultures se succédant au sein de la rotation présentant

des exigences contrastées en N et S, des minéraux considérés comme limitants pour la croissance et le développement des plantes, il apparaît pertinent de suivre l'abondance et l'activité des communautés microbiennes responsables de l'activité protéase et de l'activité arylsulfatase, deux enzymes fréquemment corrélées respectivement à la minéralisation brute de N (Zaman et al., 1999; Mishra et al., 2005) et à l'immobilisation brute de S (Dedourge et al., 2003, 2004; Vong et al., 2003, 2008).

Afin de comprendre les effets du pois, en comparaison avec d'autres plantes cultivées, sur l'abondance et la composition des communautés microbiennes, ainsi que sur les fonctions écosystémiques qu'elles réalisent (minéralisation de l'azote et du soufre), nous avons utilisé une partie des données issues d'une expérimentation au champ comparant deux rotations : colza d'hiver/blé d'hiver/orge d'hiver et colza d'hiver/blé d'hiver/orge d'hiver/pois de printemps/blé d'hiver. L'abondance et la composition des communautés microbiennes, leurs activités protéase et arylsulfatase et les flux nets de minéralisation potentielle d'azote et de soufre ont été mesurées sous toutes les cultures sur plusieurs années. L'activité d'ammonification potentielle n'a pas été mesurée sur les échantillons de sol issus de cette expérimentation au champ, et ne pourra pas être traitée dans les chapitres suivants.

Le premier chapitre correspond à un article en préparation pour PLoS One. Il présente les effets du colza, de l'orge et du pois, au-cours de leur développement, en interaction avec les conditions climatiques, sur l'abondance et l'activité (arylsulfatase et protéase) des communautés microbiennes, ainsi que sur la résultante en termes de flux nets de minéralisation de l'azote et du soufre.

Le deuxième chapitre présente les effets du pois, à différents stades de la succession culturale (1 an ou 3 ans après l'enfouissement des résidus), sur l'abondance des communautés microbiennes, la composition taxonomique de la communauté bactérienne (approche de pyroséquençage), les activités arylsulfatase et protéase, ainsi que la résultante en terme de flux nets de minéralisation de l'azote et du soufre.

Au-niveau des adventices, il a été montré dans la littérature que l'abondance (Deveikyte et al., 2009 ; Sarunaite et al., 2013) et la composition (Fried et al., 2008 ; Poggio, 2005 ; Gunton et al., 2011 ; Perronne et al., 2015) de la communauté d'adventices du pois sont différentes de celles d'autres cultures comme les céréales ou le colza. En effet, une céréale d'hiver présente généralement une abondance d'adventices plus réduite si elle fait suite à une culture de pois de printemps que si elle fait suite à une autre culture d'hiver (Stevenson et van Kessel, 1996 ; Chauvel et al., 2001 ; Colbach et al., 2010). Néanmoins, les mécanismes écologiques déterminant l'assemblage des communautés d'adventices au sein de la culture de pois et des cultures suivantes dans la rotation, ainsi que leurs conséquences en termes de compétition entre ces cultures et les adventices, sont encore mal connus.

Une approche centrée sur les traits fonctionnels de la culture et des adventices associées semble être un moyen approprié afin d'appréhender ces relations de compétition (Gaba et al., 2014).

Ainsi, la mesure des traits fonctionnels de la culture, mais également des adventices, pourraient permettre de comprendre les mécanismes à l'œuvre dans la constitution des communautés d'adventices au sein d'une rotation impliquant des cultures de pois et colza comme précédents d'une culture de blé.

Dans le troisième chapitre, nous avons évalué, en utilisant une partie des données collectées sur la même expérimentation au champ que pour les communautés microbiennes, les effets du pois sur la composition et la diversité fonctionnelle de sa propre communauté d'adventices en comparaison de celle du colza, ainsi que sur celle du blé lui succédant dans la rotation. Cette approche est complétée par une estimation de la relation compétitive culture-adventice au-travers d'une approche de quantification du recouvrement de leurs niches écologiques respectives basée sur des mesures de traits fonctionnels aériens. Ces résultats sont présentés sous la forme d'un article en préparation pour *Journal of Applied Ecology*.

Références

- Arcand, M.M., Knight, J.D., Farrell, R.E., 2013. Estimating belowground nitrogen inputs of pea and canola and their contribution to soil inorganic N pools using ¹⁵N labeling. *Plant and Soil* 371, 67–80. doi:10.1007/s11104-013-1626-z
- Carrouée, B., Jannot, P., Justes, E., Kouassi, A., Mathys, L., 1999. Fertilisation azotée de trois légumineuses. Le haricot, la luzerne et le pois protéagineux. Comité d'orientation pour des pratiques agricoles respectueuses de l'environnement, Paris, France.
- Chauvel, B., Guillemin, J.P., Colbach, N., Gasquez, J., 2001. Evaluation of cropping systems for management of herbicide-resistant populations of blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.). *Crop Protection* 20, 127–137. doi:10.1016/S0261-2194(00)00065-X
- Churka Blum, S., Lehmann, J., Solomon, D., Caires, E.F., Alleoni, L.R.F., 2013. Sulfur forms in organic substrates affecting S mineralization in soil. *Geoderma* 200-201, 156–164. doi:10.1016/j.geoderma.2013.02.003
- Colbach, N., Schneider, A., Ballot, R., Vivier, C., 2010. Diversifying cereal-based rotations to improve weed control. Evaluation with the AlomySys model quantifying the effect of cropping systems on a grass weed. *OCL - Oleagineux Corps Gras Lipides* 17, 292–300. doi:10.1684/ocl.2010.0331
- Dedourge, O., Vong, P., Benizri, É., Lasserre-joulin, F., Guckert, A., 2003. Immobilization of sulphur-35, microbial biomass and arylsulphatase activity in soils from field-grown rape, barley and fallow. *Biology and Fertility of Soils* 38, 181–185. doi:10.1007/s00374-003-0646-x
- Dedourge, O., Vong, P.C., Lasserre-Joulin, F., Benizri, E., Guckert, A., 2004. Effects of glucose and rhizodeposits (with or without cysteine-S) on immobilized-35S, microbial biomass-35S and arylsulphatase activity in a calcareous and an acid brown soil. *European Journal of Soil Science* 55, 649–656. doi:10.1111/j.1365-2389.2004.00645.x
- Deveikyte, I., Kadziulienė, Z., Sarunaite, L., 2009. Weed suppression ability of spring cereal crops and peas in pure and mixed stands. *Agronomy Research* 7, 239–244.

- Fried, G., Norton, L.R., Reboud, X., 2008. Environmental and management factors determining weed species composition and diversity in France. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 128, 68–76. doi:10.1016/j.agee.2008.05.003
- Gaba, S., Fried, G., Kazakou, E., Chauvel, B., Navas, M.L., 2014. Agroecological weed control using a functional approach: A review of cropping systems diversity. *Agronomy for Sustainable Development* 34, 103–119. doi:10.1007/s13593-013-0166-5
- Gan, Y.T., Campbell, C.A., Janzen, H.H., Lemke, R.L., Basnyat, P., McDonald, C.L., 2009. Carbon input to soil from oilseed and pulse crops on the Canadian prairies. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 132, 290–297. doi:10.1016/j.agee.2009.04.014
- Gan, Y.T.A., Liang, B.C.B., Liu, L.P.C., Wang, X.Y.A., McDonald, C.L.A., 2011. C:N ratios and carbon distribution profile across rooting zones in oilseed and pulse crops. *Crop and Pasture Science* 62, 496–503.
- Gunton, R.M., Petit, S., Gaba, S., 2011. Functional traits relating arable weed communities to crop characteristics. *Journal of Vegetation Science* 22, 541–550. doi:10.1111/j.1654-1103.2011.01273.x
- Jensen, E.S., 1997. Nitrogen immobilization and mineralization during initial decomposition of 15N-labelled pea and barley residues. *Biology and Fertility of Soils* 24, 39–44.
- Jensen, E.S., 1996. Compared cycling in a soil-plant system of pea and barley residue nitrogen. *Plant and Soil* 182, 13–23.
- Kostrzewska, M.K., Wanic, M., Jastrz, M., 2012. Weed Infestation of a Cereal-Legume Mixture Depending on Its Concentration and Position in a Crop Rotation. *Acta Agrobotanica* 65, 99–108.
- Liu, W., Xu, W., Hong, J., Wan, S., 2010. Interannual variability of soil microbial biomass and respiration in responses to topography, annual burning and N addition in a semiarid temperate steppe. *Geoderma* 158, 259–267. doi:10.1016/j.geoderma.2010.05.004
- Mishra, S., Di, H.J., Cameron, K.C., Monaghan, R., Carran, A., 2005. Gross nitrogen mineralisation rates in pastoral soils and their relationships with organic nitrogen fractions, microbial biomass and protease activity under glasshouse conditions. *Biology and Fertility of Soils* 42, 45–53. doi:10.1007/s00374-005-0863-6
- Perronne, R., Le Corre, V., Bretagnolle, V., Gaba, S., 2015. Stochastic processes and crop types shape weed community assembly in arable fields. *Journal of Vegetation Science* 26, 348–359. doi:10.1111/jvs.12238
- Poggio, S.L., 2005. Structure of weed communities occurring in monoculture and intercropping of field pea and barley. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 109, 48–58. doi:10.1016/j.agee.2005.02.019
- Reardon, C.L., Gollany, H.T., Wuest, S.B., 2014. Diazotroph community structure and abundance in wheat-fallow and wheat-pea crop rotations. *Soil Biology and Biochemistry* 69, 406–412. doi:10.1016/j.soilbio.2013.10.038
- Šarūnaitė, L., Deveikytė, I., Arlauskienė, A., Kadžiulienė, Ž., Maiksetienė, S., 2013. Pea and spring cereal intercropping systems : Advantages and suppression of broad-leaved weeds. *Polish Journal of Environmental Studies* 22, 541–551.
- Schjørring, P., Munkholm, L.J., Elmholt, S., Olesen, J.E., 2007. Organic matter and soil tilth in arable farming: Management makes a difference within 5-6 years. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 122, 157–172. doi:10.1016/j.agee.2006.12.029
- Seibutis, V., Deveikyte, I., 2006. The influence of short crop rotations on weed community composition. *Agronomy Research* 4, 353–357.
- Soon, Y.K., Arshad, M.A., 2002. Comparison of the decomposition and N and P mineralization of canola, pea and wheat residues. *Biology and Fertility of Soils* 36, 10–17. doi:10.1007/s00374-002-0518-9
- Stevenson, F.C., van Kessel, C., 1996. A landscape-scale assessment of the nitrogen and non-nitrogen benefits of pea in a crop rotation. *Soil Science Society of America Journal* 60, 1797–1805.
- Swinnen, J., 1994. Rhizodeposition and turnover of root-derived organic material in barley and wheat under conventional and integrated management. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 51, 115–128. doi:10.1016/0167-8809(94)90038-8

-
- Vaughn, K.J., Young, T.P., 2010. Contingent conclusions: Year of initiation influences ecological field experiments, but temporal replication is rare. *Restoration Ecology* 18, 59–64. doi:10.1111/j.1526-100X.2010.00714.x
- Vong, P., Dedourge, O., Lasserre-Joulin, F., Guckert, A., 2003. Immobilized-S, microbial biomass-S and soil arylsulfatase activity in the rhizosphere soil of rape and barley as affected by labile substrate C and N additions. *SOIL BIOLOGY AND BIOCHEMISTRY* 35, 1651–1661. doi:10.1016/j.soilbio.2003.08.012
- Vong, P., Piutti, S., Slezack-Deschaumes, S., Benizri, E., Guckert, A., 2008. Sulphur immobilization and arylsulphatase activity in two calcareous arable and fallow soils as affected by glucose additions. *Geoderma* 148, 79–84. doi:10.1016/j.geoderma.2008.09.008
- Wichern, F., Eberhardt, E., Mayer, J., Joergensen, R.G., Müller, T., 2008. Nitrogen rhizodeposition in agricultural crops: Methods, estimates and future prospects. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 30–48. doi:10.1016/j.soilbio.2007.08.010
- Wichern, F., Mayer, J., Joergensen, R.G., Müller, T., 2007. Release of C and N from roots of peas and oats and their availability to soil microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2829–2839. doi:10.1016/j.soilbio.2007.06.006
- Yin, C., Jones, K.L., Peterson, D.E., Garrett, K.A., Hulbert, S.H., Paulitz, T.C., 2010. Members of soil bacterial communities sensitive to tillage and crop rotation. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 2111–2118. doi:10.1016/j.soilbio.2010.08.006
- Zaman, M., Di, H.J., Cameron, K.C., Frampton, C.M., 1999. Gross nitrogen mineralization and nitrification rates and their relationships to enzyme activities and the soil microbial biomass in soils treated with dairy shed effluent and ammonium fertilizer at different water potentials. *Biology and Fertility of Soils* 29, 178–186. doi:10.1007/s003740050542

Response of microbial communities to crop species and interannual climatic variability at field scale

Nicolas Romillac^{a,b}, Sophie Slezack-Deschaumes^{a,b}, Bernard Amiaud^{c,d}, Séverine Piutti^{a,b}

^a Université de Lorraine, Laboratoire Agronomie et Environnement, UMR 1121, TSA 40602, F-54518 Vandœuvre cedex, France

^b INRA, Laboratoire Agronomie et Environnement, UMR 1121, TSA 40602, F-54518 Vandœuvre cedex, France

^c Université de Lorraine, UMR 1137, Ecologie et Ecophysiologie Forestière, F-54500 Vandœuvre lès Nancy, France

^d INRA, UMR 1137, Ecologie et Ecophysiologie Forestière, F-54280 Champenoux, France

Mis en forme pour **PLOS ONE**

Abstract

The abundance and activity of soil microbial communities are influenced by several environmental filters which modify soil parameters such as moisture, pH or organic and mineral nutrients availability. Among those filters, the influence of climate has often been demonstrated at a regional or global scale but rarely at a local scale and taking account interannual variability. The crops species constitute another filter likely to strongly act at a local scale. In order to determine the influence of interannual climatic variability and different crop species on microbial communities, we determined microbial abundances, enzymatic activities (arylsulfatase and protease activities) and N and S mineralization in field over 3 years and under 3 different crops differing in their N and S requirements, amount and composition of rhizodeposits and root litter and cycle length (oilseed rape (*Brassica napus*), barley (*Hordeum vulgare*) and pea (*Pisum sativum*)). Microbial abundances determined by molecular techniques varied according to the crop species, with a higher abundance of fungi, bacteria and proteolytic bacteria under oilseed rape but a higher bacteria/fungi ratio under pea. Abundances of culturable bacteria and enzymatic activities did not vary according to crop. However, all the microbial variables were more influenced by the meteorology than by the crop species, microbial abundances being more influenced by precipitations and microbial activities by temperature. The precipitations and temperature effects on microbial variables depended of the crop species, with a stronger link between temperature and enzymatic activities under oilseed rape than under other crops. N and S net mineralization variation were explained by protease activity, arylsulfatase activity and abundance of arylsulfatase bacteria. As enzymatic activities were strongly responding to meteorological factors in our study, we suppose that the influence of meteorology over pass the influence of crops for N and S mineralization.

Key words: protease, arylsulfatase, nitrogen mineralization, sulfur mineralization, interannual climatic variation, *Pisum sativum*, *Brassica napus*, *Hordeum vulgare*

Introduction

Soil microbial communities decompose and mineralize organic matter through the production of different enzymes, leading to the release of plant available nutrients. Factors shaping the structure of soil microbial communities are considered to be environmental filters. Among soil properties, bacterial community composition and diversity are shaped at relatively large scales by pH (Lauber et al., 2008) whereas the extracellular enzymes responsible for hydrolyzing the labile fraction of soil organic matter are determined by substrate availability, soil pH and the stoichiometry of microbial nutrient demand

(Sinsabaugh et al., 2008). Climate conditions such as precipitation regime and mean temperature constitute another environmental filter. Precipitations influence the biomass, composition and activity of litter decomposer communities in particular in forest ecosystems (Fierer et al., 2003). Soil moisture generally has a greater impact on soil enzymatic activities than temperature variation (Henry, 2013). Nevertheless, in the case of nitrogen, the potential enzyme activities may be decoupled from moisture availability when substrates are limited (Geisseler et al., 2011). As previously shown for soil properties, mean annual precipitation is a good predictor of litter decomposition rate at global or regional scales but not at local scale suggesting that biotic filters such as plant species and phenology have a greater influence. Throughout their development, plants influence microbial communities by modifying their abundance, composition and enzymatic activities (Hu et al., 2002; Knauff et al., 2003; Dinesh et al., 2004; Mougél et al., 2006; Gschwendtner et al., 2010; Xuan et al., 2012; Legay et al., 2014; Bell et al., 2015). The plant influence on the microbial communities depends on the considered scale with a stronger effect of plants on microbes inhabiting the rhizosphere than the whole soil (Hargreaves et al., 2015). In perennial cropping systems, plants induce changes in the physiological capacity of the microbial community by modifying the activity associated with soil N cycling without increasing microbial biomass (Hargreaves and Hofmockel, 2014).

These microbial shifts in turn may alter the rates of soil C, N and S mineralization (Van der Krift and Berendse, 2001; Hu et al., 2002; Parkin et al., 2002; Gan et al., 2010; Zhu et al., 2014).

In ecosystems, seasonal changes in enzyme activity evidenced in different studies (e.g. Watanabe and Hayano, 1995; Sardans et al., 2008) suggest a great dependence of C and N dynamics on short-term substrate supply from crop roots. As soil microbes are heterotrophs and given their stoichiometric requirements, the availability of C and mineral nutrients has to be considered (Fierer et al., 2009; Sinsabaugh et al., 2008) because microbial communities induce enzymes synthesis either to respond to nutrient limitation and/or to energy requirement. Among enzymes involved in microbial nutrition, proteases, which hydrolyze proteins to peptides and amino acids, and arylsulfatases, which hydrolyze sulfate esters to sulfate, are thought to play a key role for N and S mineralization at ecosystem level. Proteases are microbial enzymes whose activity is positively correlated to N gross mineralization (Zaman et al., 1999; Mishra et al., 2005; Yuan et al., 2011) and that are considered to realize the limiting step of N mineralization (Jan et al., 2009). The synthesis of proteases is rather induced by the microbial need for C (Sims and Wander, 2002; Geisseler and Horwath, 2008), except in soils with strong mineral N limitation (Geisseler and Horwath, 2008). Among the microbial enzymes implicated in S cycling, arylsulfatase (ARS) is believed to be involved in mineralization of sulfate esters in soils (Tabatabai and Bremner, 1970). Dedourge et al. (2004) evidenced a positive correlation between S immobilization and ARS activity in soil without any changes in S microbial biomass suggesting a regulation of the synthesis

of ARS by the substrate and/or the sulfate limiting conditions (Cregut et al., 2013). Arylsulfatase activity (Legay et al., 2014) and protease activity (Geisseler and Horwath, 2008) may be influenced by plants which can modify the availability of organic and mineral nutrients in soil through root uptake and rhizodeposition (comprising root exudation and root litter production; Wichern et al., 2008) (Haynes and Francis, 1993; Inselsbacher et al., 2010; Bell et al., 2015).

The amount and composition of plant rhizodeposition and nutrient uptake is crop specific. This is especially true for crops belonging to different botanical families such as oilseed rape (Brassicaceae), wheat or barley (Poaceae) and pea (Fabaceae), which differ in terms of phenology length, biomass production and N and S requirements. While pea due to biological nitrogen fixation can be almost independent from soil for N nutrition in N poor soils, oilseed rape (Chamorro et al., 2002; Berry et al., 2010; Kessel et al., 2012) and barley (Delogu et al., 1998; Rutkowska et al., 2014; Eckersten et al., 2010) uptake from soil high N amounts ranging from 50 to 200 kgN ha⁻¹. Concerning the sulfur, crops S requirements increase from 10-15 kgS ha⁻¹ for barley to 50-80 kgS ha⁻¹ for oilseed rape (Walker and Booth, 1992). Fabaceae species require also a large amount of S (20 to 50 kg S ha⁻¹; Taureau et al., 1987), probably because of their high protein content and because S is essential for biological nitrogen fixation (Varin et al., 2010). Oilseed rape and barley produce a higher amount of rhizodeposit than pea. The C rhizodeposition decrease in the following way: spring barley (530 to 880 kgC ha⁻¹; Swinnen 1994) > spring oilseed rape (348 kgC ha⁻¹; Gan et al., 2009) > spring pea (132 to 145 kgC ha⁻¹; Gan et al., 2009). Nevertheless, for pea, due to biological nitrogen fixation, N rhizodeposition reach on average 57 mg N plant⁻¹ (Wichern et al., 2008), a value closed to those found for oilseed rape (59 mgN plant⁻¹; Arcand et al., 2013). In comparison, N rhizodeposition of barley is about 17 mg N plant⁻¹; Jensen, 1996). As a consequence, pea rhizodeposits, calculated by isotopic methods, have C:N as low as 17 (Wichern et al., 2007a,b) which is probably lower than those of oilseed rape and barley. Despite no study to our knowledge measured the rhizodeposits C:N of oilseed rape and barley, the C:N of water-soluble contents are 9.6 and 11.3 respectively for rape and barley roots (Vong et al., 2007). No data to our knowledge exist on S rhizodeposition or root C:S for those three crops even if C:S of water-soluble contents are 26 and 38 respectively for rape and barley roots (Vong et al., 2007) suggesting that oilseed rape rhizodeposits have probably a lower C:S than barley rhizodeposits.

Plant rhizodeposition and nutrient uptake, as well as their impact on microbial communities and soil processes, have been evaluated both in microcosms and in field conditions, but field experiments are often complicated by high seasonal and interannual variability of microbial variables (Schjonning et al., 2007; Soon et al., 2007; Yin et al., 2010; Vaughn et al., 2010; Liu et al., 2010; Reardon et al., 2014).

Seasonal variability in temperature and precipitations may directly influence microbial communities both in terms of abundance, structure and activity and indirectly through the regulation of nutrient resources. Different studies focusing on these aspects were dedicated to forest (Kaiser et al., 2010; Richard et al., 2011; Burke 2015) or grassland ecosystems (Lipson et al., 1999). Whatever the ecosystem, the links between the seasonal or interannual evolution of soil microbial community composition and microbial functions related to nutrient cycles were little discussed in the literature. Waldrop and Firestone (2006) which showed significant effect of both season and year stated that soil moisture may be the principal factor controlling microbial community composition and function in Mediterranean climate. Among the possible drivers of the interannual variability of soil microbial communities in grasslands are included plant growth, soil moisture, and ambient temperature (Gutknecht et al. 2012). In agricultural soils, Lauber et al. (2013) evidenced that over a 7-month period soil moisture and temperature were two predictors of community composition and that a large proportion of these seasonal variations were probably explained by the C availability through the regulation of C-inputs (i.e. root exudates and plant litter). Soil moisture and temperature are important determinants of soil microbial abundance (Franzluebbers et al., 2001; Castro et al., 2010; Serna-Chavez et al., 2013) and microbial enzymatic activities (Mancinelli et al., 2013; Sardans and Penuelas, 2005; Fraser et al., 2013; Vanegas et al., 2013). Likewise, climatic conditions affect plant growth with subsequent consequences on rhizodeposition and nutrient uptake (Bassirirad, 2000; Jones et al., 2004; Mahieu et al., 2009; Canarini and Dijkstra, 2015). As a consequence, crop species and climatic conditions could have interactive effects on microbial abundances and activities (Classen et al., 2015). At field level, the relative importance of climatic conditions and crop characteristics (in terms of duration of development and nutrient requirements) as determinants of abundance and enzymatic activities of microbial communities remain still unresolved. Particularly, no study to our knowledge compared the influence of climatic conditions on microbial communities implicated in protease and arylsulfatase activity under different winter and spring crops. In order to assess the effect of three crop species with different rhizodeposition and nutrient uptake abilities, namely winter oilseed rape, winter barley and spring pea, in interaction with climatic conditions, on abundance and activities of microbial communities involved in N and S mineralization, we used data collected from a rotation experiment over 3 years. Microbial abundance was evaluated by molecular and culture-dependent techniques, targeting total communities and specific functional groups. Microbial activities involved in N and S mineralization were evaluated by protease and arylsulfatase activities.

We hypothesized (1) that microbial abundances will be higher under plants with high C rhizodeposition (i.e. oilseed rape and barley) but that bacteria will be favored over fungi under plants with low root C/N (i.e. pea), (2) that enzymatic activities (i.e. protease and arylsulfatase activities) will be higher under plants with the highest requirements for N and S, (3) that climate conditions will more strongly

influence microbial abundances and activities than crop species and that this effect will be stronger under spring crops than winter crops, and finally (4) that the influence of crop species and climate on microbial abundances and activities can result in modifications of N and S mineralization.

Material and Methods

Ethic statement

No specific permit was required to perform the culture trial. Permission was provided by the landowner (Bouzule experimental farm).

Site description and soil sampling

The soil samples were collected in an experimental field experimental trial located in the Lorraine region of Northeastern France (Champenux, 48° 73' N, 6° 31' E). The mean annual rainfall was 734 mm and the mean annual air temperature was 9,9 °C over the experiment period. Precipitation and temperature data were recorded every month at the meteorological station of the Institut National de la Recherche Agronomique (INRA Champenux, located 2 km from the experimental field). Monthly temperature and precipitations are summarized in Table 1. The soil is a vertic (clayic) cambisol (FAO-WRB classification), containing 62% clay, 35% silt and 3% sand. Soil characteristics over the entire experimental site were analyzed before setting up the different plots. The physico-chemical properties are detailed in Table 2. The field, previously cultivated with a maize-maize-spring barley rotation system, was shown to be non-homogeneous for the two following soil parameters measured: pH and CaO. To avoid plot-to-plot variations, the experimental design consisted of 4 blocks, arranged perpendicular to a pH and CaO gradient (Table 2). Each block (100x72m) was divided in 8 plots of 50x18 m. Each plot corresponds to a different culture belonging either to a 3- or 5-year crop rotation systems. The 3 year crop rotation system consists in a winter crop succession oilseed rape (*Brassica napus* L.) – wheat (*Triticum aestivum* L.) – barley (*Hordeum vulgare* L.). The 5 year crop rotation system characterized by the introduction of spring pea consists in the following winter succession: oilseed rape – wheat – barley-spring pea (*Pisum sativum* L.) – wheat. On each plot of a block, the rotation began at a different phase in order to allow each of rotations crops to be present each year in each block (randomized “phases differences” design; Yates, 1954), allowing each of the cropping phases of the two rotations to be present each year in each block. All plots were deep-ploughed every year before crop establishment. Management practices were in accordance to standard recommendations for fertilization. Oilseed rape was systematically fertilized with mineral nitrogen and sulfur, barley was systematically fertilized with nitrogen, while pea plots did not receive

Table 1 Average monthly temperature and monthly precipitations amounts during the three cropping cycles

	Temperature (°C)			Precipitations (mm)		
	2010- 2011	2011- 2012	2012- 2013	2010- 2011	2011- 2012	2012- 2013
August	17.0	18.2	19.4	105.8	98.2	39.0
September	13.0	16.0	14.2	94.4	29.6	51.6
October	8.9	10.0	10.0	41.6	51.6	59.2
November	5.8	6.1	5.9	84.2	8.4	82.6
December	-1.4	4.9	3.7	103.6	115.4	99.6
January	2.4	3.4	1.1	39.2	67.4	35.4
February	3.2	-1.8	-0.2	17.4	8.6	49.6
March	7.3	8.3	2.7	12.4	16.2	28.0
April	12.6	8.6	9.1	13.8	49.0	103.2
May	14.6	14.4	10.7	30.2	126.0	120.6
June	16.9	16.0	16.1	66	60.4	60.8
July	15.9	17.2	20.4	76.2	73.6	51.2

N or S fertilization. Cereals straw was exported. Pesticides were applied when necessary according to the regional alert thresholds.

Soil samples were taken in the plots cultivated with rapeseed, barley and peas. For each plot, soil samples were collected from the plough layer (0-20 cm) in July 2011 and in May and July 2012 and 2013. In May, phenological stages corresponded respectively to flowering, stem elongation and leaves initiation for rapeseed, barley and pea. In July, all crops were close to maturity stage. The sampling area was identified by GPS coordinates in order to limit the spatial variability of samples between years. Soil samples were sieved at 5 mm, thoroughly homogenized and stored at 4 °C for microbial analysis. A sub-sample of soil was frozen at -20 °C for molecular analysis. A total of 20 soil samples corresponding to 5 plots per block were collected at each sampling date.

Table 2 Site characteristics per block

A)	Bloc 1	Bloc 2	Bloc 3	Bloc 4
Clay (%)	60	65	61	59
Silt (%)	36	33	34	35
Sand (%)	4	3	5	6
pH H ₂ O	7.21	7.38	7.41	8.04
Cation-exchange capacity (meq/100g)	26.20	26.10	26.00	24.60
Organic matter (%)	5.26	5.84	5.20	4.73
Organic C (g/kg)	30.4	33.8	30.1	27.4
Total N (g/kg)	3.36	3.64	3.59	2.88
Total S (mg/kg)	707	763	715	664
CaO (ppm)	8001	8625	9849	12848
C/N	9.03	9.27	8.38	9.52
C/S	43.0	44.2	42.1	41.2

Soil protease and arylsulfatase activities

Potential protease activity was determined according to Ladd and Butler (1972). Briefly, 1g of fresh soil was incubated for 4 h at 45 °C with 2.5 ml of 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 8) and 2.5 mL 2% sodium caseinate solution. Addition of 5 mL 10% trichloroacetic acid terminated the enzymatic reaction. For each sample, a control assay was performed with 1 g of fresh soil incubated 4 h at 45 °C in 2.5 ml of 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 8). Addition of 5 mL 10% trichloroacetic acid terminated the enzymatic reaction. Then, the substrate (sodium caseinate) was added. After centrifugation at 16,000 g for 2 min, 0.5 mL of supernatant was mixed with 0.75 mL 1.4M sodium carbonate and 0.25ml 16.5% Folin-Ciocalteu reagent during 5 min. The concentration of tyrosine released was determined colorimetrically at 680 nm using a Cary® 300 spectrophotometer (Varian, Palo Alto, USA). Protease activity was expressed as the amount of tyrosine produced per hour per gram of dry soil.

Potential arylsulfatase activity was determined according to Tabatabai and Bremner (1970). Briefly, 1g of fresh soil was incubated for 1 h at 37 °C with 4 mL of 0.5 M sodium acetate buffer (pH 5.8), 0.25 mL toluene and 1mL of 25 mM p-nitrophenyl sulphate. Addition of 1 mL 0.5 M CaCl₂ and 4 mL 0.5 M NaOH terminated the enzymatic reaction. For each sample, a control assay was performed with 1 g of fresh soil incubated one hour at 37°C in 4 ml of 0.5 M acetate buffer (pH 5.8) and 0.25 ml toluene. After filtration, 5 mL of NaOH 0.5 M was added to stop the enzymatic reaction. Then, the

substrate (p-nitrophenyl-sulfate) was added. After filtration on Whatman 2V filter paper (Whatman, Maidstone, United Kingdom), the concentration of p-nitrophenol released was determined colorimetrically at 400 nm using a Cary® 300 spectrophotometer (Varian, Palo Alto, USA). Arylsulfatase activity was expressed as the amount of p-nitrophenol produced per hour per gram of dry soil.

Quantification of 16S rDNA, 18S rDNA and apr genes

Genomic DNA was extracted from each soil samples using Fast DNA® SPIN Kit for Soil (MP Biomedical, Santa Anna, USA) according to the manufacturer's instructions. The DNA concentration in the extracts was diluted to 5 ng μL^{-1} to be used as template for the amplification by PCR of different molecular markers. Evaluation of the total bacterial, the total fungal and the protease communities' abundances were performed using the 16S rDNA, the 18S rDNA and the *apr* (Bach et al. 2002; Lee et al. 1996; Prévost-Bourré et al. 2011) as molecular markers, respectively. The quantification of 16S rDNA gene was performed with the 341F and the 534R primers (Lopez-Gutierrez et al. 2004) in a 10 μL reaction volume containing 10 ng of template DNA, 1x Power SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, USA), 1 μM of each primer and 250 ng T4Gene 32 (MP Biomedicals, Strasbourg, France). The PCR conditions were: 95 °C for 10 min, 35 cycles of 15 s at 95 °C (denaturation), 30s at 60 °C (annealing), 30 s at 72 °C (extension). The quantification of 18S rDNA gene was performed with the FR1 and the FF390 primers (Prévost-Bouré et al. 2011) in a 20 μL reaction volume containing 10 ng of template DNA, 1x Power SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, USA), 1.25 μM of each primer and 100 ng T4Gene 32 (MP Biomedicals, Strasbourg, France). The PCR conditions were: 95 °C for 10 min, 40 cycles of 15 s at 95 °C (denaturation), 30s at 50 °C (annealing), 60 s at 72 °C (extension). The abundance of *apr* genes was determined using *apr* I and *apr* II primers (Bach et al. 2002) in a 20 μL reaction volume containing 10 ng of template DNA, 1x Power SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, USA), 1.75 μM of each primer and 150 ng T4Gene 32 (MP Biomedicals, Strasbourg, France). The PCR conditions were: 95 °C for 10 min, 40 cycles of 20 s at 95°C, 30 s at 53°C, 60 s at 72°C (Gschwendtner et al. 2010). PCR were carried out in a StepOne Plus™ thermocycler (Applied Biosystems, Foster City, USA) and quantification was based on the increasing fluorescence of the SYBR Green during amplification. For each sample, three replicates were done on different PCR plates. Standard curves were obtained using serial dilutions of linearized PCR8®/GW/TOPO® plasmids (Life Technologies, Carlsbad, USA), containing the targeted DNA sequences obtained from soil bacterial or fungal strains. Specificity of the amplified products was checked by melt curves analysis and by electrophoresis of the qPCR products on a 1.5 % (w/v) agarose gel.

Quantification of total culturable bacteria and culturable bacteria possessing ARS or proteolytic activities

Ten grams of each soil sample was mixed with 100 ml phosphate buffer (8 g NaCl, 1.44 g Na₂HPO₄, 0.24 g KH₂PO₄/l, pH 7.2). Soil suspensions were serially diluted. The dilutions (10^{-3} to 10^{-5}) were used for the determination of the number of culturable cells as colony forming units (CFU) by spread-plating serial dilutions onto tryptone soy agar 10 % (Biokar Diagnostics, Pantin, France). Three replicates for each dilution were prepared. The agar plates were incubated in the dark at 28 °C for 10 days.

The abundance of culturable proteolytic bacteria was determined by plating the soil suspension on a calcium caseinate-agar 30.7 g L⁻¹ solid growth medium (Sigma-Aldrich, Saint-Louis, USA). Colonies surrounded by a clear halo, expressing protease activity, were counted after 10 days incubation at 28°C. All bacterial abundances were expressed as CFU per gram of dry soil.

The abundance of ARS bacteria was estimated by plate counting (three replicates for each dilution from 10^{-2} to 10^{-4}) on M9-X-sulf medium (Cregut et al. 2009). X-sulf is a chromogenic substrate that reports the bacterial hydrolysis of this sulfate ester with the appearance of a blue colour (Wyss 1989). The blue colonies (expressing ARS activity) were counted after 21 days of incubation at 28 °C.

Sulfur and nitrogen mineralization kinetics

For field soil samples collected in July, incubation on 10 g of equivalent dry soil was performed in the dark at 20°C with replicates corresponding to 5 incubation sampling dates (0, 3, 7, 14, 28 days). The soil was moistened to 80% of the water-holding capacity (WHC). Microbial communities were placed under non limiting conditions for N and S by addition of 0.7 mg N-KNO₃ and 0.2 mg S-Na₂SO₄. At each sampling date (0, 3, 7, 14, 28 days), part of the soil from each pot (5g) was removed for moisture determination after drying at 105°C for 24 h. The other part (5g) was shaken with 25 ml 0.016 M KH₂PO₄ in an end-over-end shaker for 30 min (Walker and Doornenbal, 1972). The suspension was filtered on a Whatman 2V and refiltered through a 0.45 µm cellulose nitrate filter (Millipore). KH₂PO₄ extracts were frozen at -20°C until the determination of the soil mineral S (SO₄²⁻) and N (NO₃⁻) contents by ionic chromatography.

Statistical analysis

The general structure of the data was assessed with a Principal Component Analysis (PCA), realized with the FactoMineR package v1.28 (Lê et al., 2008), with the crop species and the sampling time as illustrative factors. The effect of crop on the median of the examined variables was analyzed using a Friedman paired test with the crop as a factor. Data were paired according to the block and the

sampling time. The means were grouped using a post-hoc pairwise multiple comparison Nemenyi test, realized with the PMCMR package v1.1 (Pohlert, 2014). The relationship between the climatic variables (explanatory) and the microbial variables (response) was analyzed using a redundancy analysis (RDA), a constrained ordination procedure based on the principal component analysis that allows assessments of the relationship between a set of explanatory variables and a set of response variables. Only the variables measured at all sampling time were included in the RDA. Prior to the RDA, the set of explanatory variables underwent forward selection using the ordistep function (Oksanen et al., 2013) to select the most significant variables and avoid multicollinearity (Legendre and Legendre, 1998). The RDAs and variation partitioning were performed using the vegan 2.0-9 package (Oksanen, 2013).

The adjusted R^2 values were calculated using Ezekiel's formula (Ezekiel, 1930). The significance of the RDA and variation partitioning results was assessed using a Monte-Carlo permutation test with 1,000 permutations. R 3.0.0 software (R Core Team 2013) was used for all the statistical analyses.

Results

Effect of crop species on soil microbial abundances and activities

For the five sampling dates, the abundance of total soil microbial communities was followed for the different crop modalities (Fig 1). No significant crop effect was evidenced on the culturable part of total bacterial community while the copy numbers of 16S rDNA and 18S rDNA were significantly different according to the crop species. The 16S rDNA copy numbers per gram of dry soil were highest under R/W ($2.38 \cdot 10^8$) and lowest under P/B ($1.84 \cdot 10^8$) ($\chi^2 = 9.8$, $p < 0.05$). The 18S rDNA copy numbers were specifically higher in oilseed rape treatment ($3.02 \cdot 10^7$ and $2.57 \cdot 10^7$ respectively for R/W and R/B) compared to B/W ($1.60 \cdot 10^7$) and P/B ($1.46 \cdot 10^7$) ($\chi^2 = 10.70$, $p < 0.01$). The 16S rDNA:18S rDNA was also highest in the oilseed rape treatments (respectively 7.7 and 9 for R/W and R/B) compared to the other crop species (16.7 under B/W and 14.3 under P/B) ($\chi^2 = 11.02$, $p < 0.01$). The densities of culturable bacteria possessing arylsulfatase and protease activities were not significantly different in soil samples whatever the crop species at the same manner of soil enzymatic activities (protease and arylsulfatase). The copy number of *apr* gene was highest under R/W ($1.76 \cdot 10^7$) and B/W ($2.00 \cdot 10^7$) and lowest under P/B ($1.35 \cdot 10^7$) ($\chi^2 = 10.44$, $p < 0.05$) but the relative *apr* to 16S rDNA ratio (mean value 0.10) was not different between the crop species.

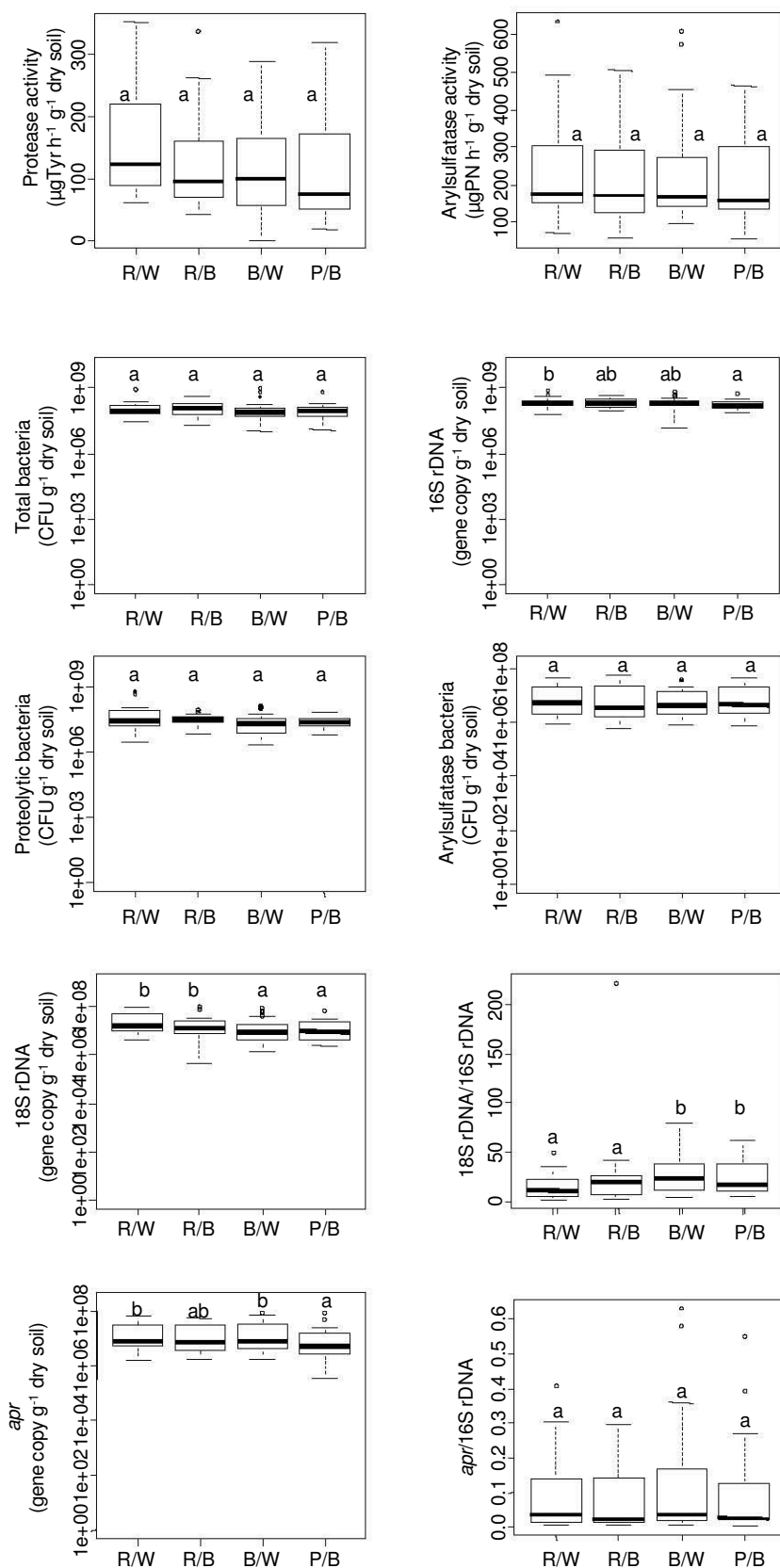


Fig. 1 Boxplots of microbial activities and abundances and N and S net mineralization according to crop. R/W: oilseed rape after wheat, R/B: oilseed rape after barley, B/W: barley after wheat, P/B: pea after barley. Values with different letters are significantly different ($p < 0.05$). Boxplots indicate median, interquartiles (25-75%), maximum, minimum and outliers.

Effect of sampling date and climatic conditions on soil microbial abundances and activities

The sampling date had a significant effect on every single microbial variable, with strong amplitude (variations from 5 to 17 times between the highest and the lowest value, depending on the variable) (Fig. 2). Overall, most of the variables varied between years but only the density of culturable bacteria with protease activity and soil arylsulfatase activity varied between May and July of the same year. The density of total culturable bacteria was lower in May and July 2013 (mean value 4.78×10^7) compared other sampling dates (1.80×10^8). The number of 16S rDNA copies was higher in May 2012 (3.19×10^8), lower in July 2011 (1.41×10^8) and intermediate at the other sampling dates while the number of 18S rDNA copies was higher in May 2012 (4.98×10^7) but lower in May and July 2013 (6.41×10^6). As a consequence, the 16S rDNA:18S rDNA was higher in May and July 2013 (36) compared to other sampling dates (16). The densities of culturable bacteria possessing protease activity was lower in May and July 2013 (1.84×10^7) compared other sampling dates (7.35×10^7), while the abundance of culturable bacteria possessing arylsulfatase activity was higher in July 2013 (3.01×10^7) than at any other sampling date (7.01×10^6). The copy number of *apr* gene was higher in May and July 2013 (3.47×10^7) than at other sampling dates (4.68×10^6) and the *apr* to 16S rDNA ratio followed the same trend (0.21 in May and July 2013, 0.02 at other sampling dates). Soil protease activity was lower in May 2013 (54.6) and higher in July 2012 (202) while arylsulfatase activity was higher in July 2011 (416) and July 2013 (272) than at other sampling dates (142).

Relative importance of crop species and sampling date for the microbial abundances and activities

Multivariate regression trees (MRTs) were used to evaluate the relative importance of crop species and sampling date to explain the changes in microbial abundances and activities. The MRT analysis explained the relationship of microbial variables (Fig. 3a microbial abundance and fig. 3b microbial activities) and biotic (crop species) and abiotic factors (sampling date) in a visualized tree. The tree cross-validated error was 0.72 and 0.33 for microbial abundances and activities, respectively, i.e. 18% and 77% of the variability were explained by the trees. The sampling date was more important than the crop species both for the microbial abundances and activities, as highlighted by the primary split and by the importance of the sampling date for the MRTs construction (65% for the MRT analysis of microbial abundances and 100% for the MRT analysis of enzymatic activities). In the first tree (Fig. 3a), the variables of microbial abundance were first split by sampling date (first split error 0.83). Data from 2011 and 2013 were placed into one group and data from 2012 were placed into a separate group. The first group was split further according the sampling year which appeared more influential than the sampling month (i.e. May or July) for microbial abundances as observed previously in Fig. 2. Crop species appeared only at the third node in the MRT, segregating R/W from the other crops in July 2011.

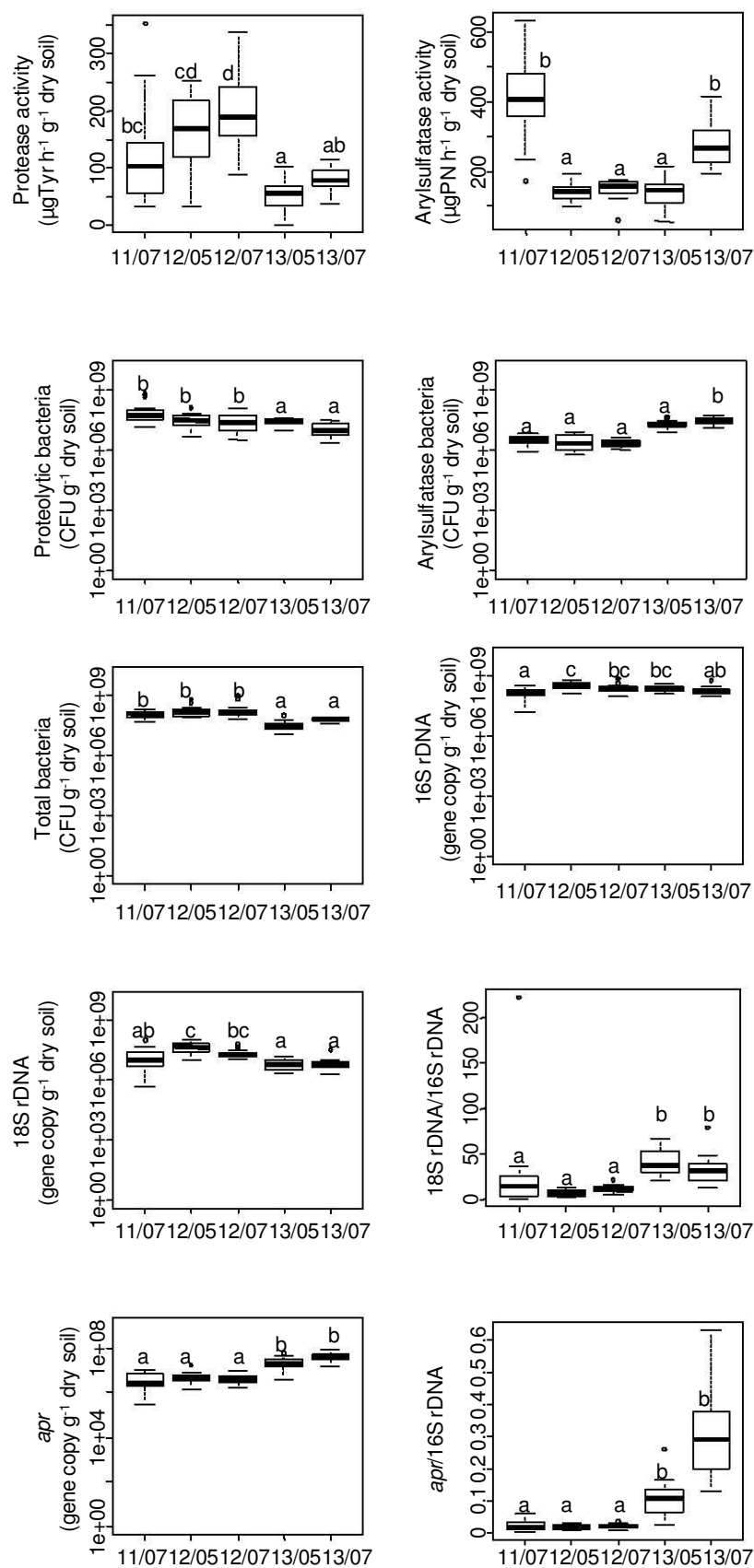


Fig. 2 Boxplots of microbial activities and abundances and N and S net mineralization according to sampling date. Values with different letters are significantly different ($p < 0.05$). Boxplots indicate median, interquartiles (25-75%), maximum, minimum and outliers.

In the MRT analysis of microbial activities, crop factor never appeared while the sampling season appeared as important as the sampling year as shown by the first split (first split error 0.83) which separated May 2012, May 2013 and July 2012 samples from July 2011 and 2013 samples (Fig. 3b). The two MRT analyses evidenced that each microbial variable was more influenced by the sampling date (reflecting seasonal and interannual variability) than by the crop species, as shown by the high relative importance of this factor for the construction of univariate regression tree (Table 3). Among microbial abundance variables, the density of culturable proteolytic bacteria was almost equally influenced by sampling date and by crop species. This largely explained the influence of crop

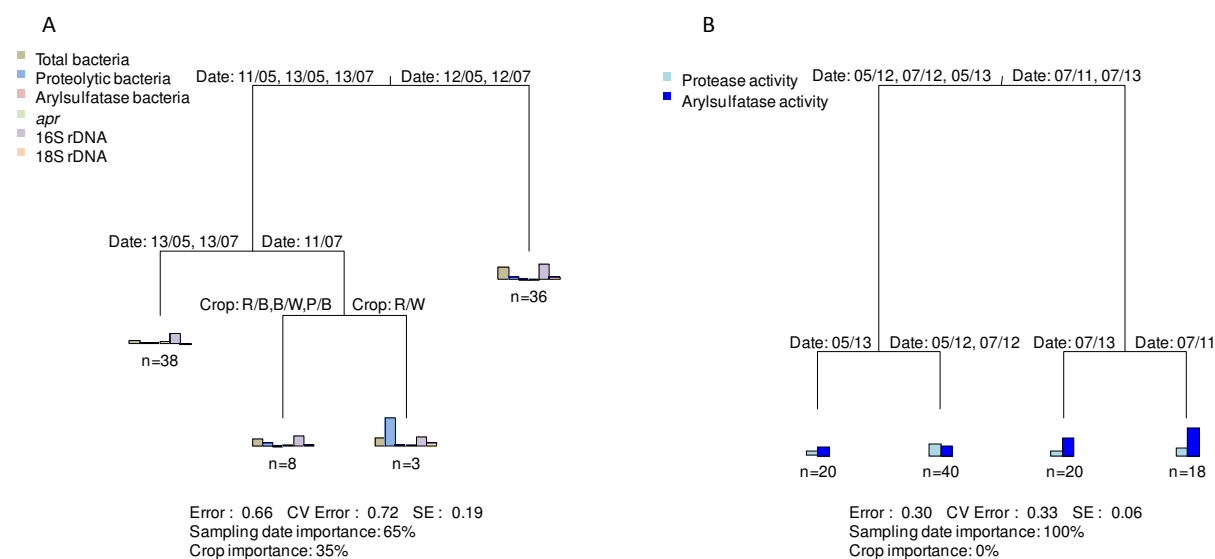
Variable	Relative error	Sampling date importance (%)	Crop importance (%)
Protease activity	0.51	100	0
Arylsulfatase activity	0.25	100	0
Total bacteria	0.71	96	4
Proteolytic bacteria	0.52	56	44
Arylsulfatase bacteria	0.21	92	8
<i>apr</i>	0.30	100	0
16S rDNA	0.72	87	13
18S rDNA	0.37	78	22

Table 3 Importance of sampling date and crop species for the construction of an univariate regression tree with the microbial abundances and activities as response variables.

species on the variables related to microbial abundance in July 2011, due to the high abundance of proteolytic bacteria under R/W compared to the other crop species as seen on the third split on MRT (Fig. 3a). Furthermore microbial variables were not all affected to the same degree by the sampling date and the crop species as shown by the diverse relative errors (i.e., the fraction of variance not explained) of the univariate regression trees (Table 3).

Indeed, arylsulfatase activity, culturable arylsulfatase bacteria, *apr* genes and 18S rDNA genes were particularly influenced by sampling date and crop species, with relative errors as low as 0.21. On the other hand, total bacteria and 16S rDNA were only slightly influenced by sampling date and crop species, with relative errors of 0.71 and 0.72, respectively, while culturable proteolytic bacteria and protease seemed intermediary with relative errors of 0.52 and 0.51, respectively.

In order to understand the changes of microbial abundances and activities according to the sampling date, we performed redundancy analyses (RDA), using as explanatory variables the average temperature and cumulative precipitation over different time scales (averaged or summed over the last 7, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 or 240 days before sampling or since plant sowing). In order to analyse possible interactions between meteorological factors and crop species, RDAs were performed first for all crops and then independently for each crop (Fig. 3).



The RDAs including all crops showed that meteorological variables better explained the variation of microbial activities (arylsulfatase and protease) than those of microbial abundances ($r^2= 0.61$ and 0.36 , respectively) (Fig. 3). Microbial abundances were most likely influenced by the cumulative precipitations while microbial activities were most likely influenced by the average temperature. Among microbial abundance variables, *apr* genes and culturable arylsulfatase bacteria were positively correlated to cumulative precipitations, while total culturable bacteria, culturable proteolytic bacteria, the copy numbers of 16S rDNA and 18S rDNA genes were negatively correlated with them (Table 4). Arylsulfatase and protease activities were both positively correlated to average temperature, but protease activity was also negatively correlated to cumulative precipitation (Table 4).

was similar between the three crops for microbial abundances but was two times higher under oilseed rape compared to barley and pea crops for microbial activities (0.67 against 0.38 and 0.41). This strong explanatory power was partly due to protease activity which exhibited correlations with more explanatory variables under oilseed rape compared to the other two crops (Table 4). The timescale of meteorological factors influencing microbial abundances was very similar under barley and pea (cumulative precipitations over 60 and 120 days), but microbial abundances under oilseed rape were influenced by cumulative precipitations over longer periods (i.e. 180 and 240 days). Microbial activities were influenced, in the case of pea, by average temperature over the shortest period (i.e. 7 and 30 days). For oilseed rape crop these activities were influenced by average temperature over the longest periods (i.e. 30 days, 180 days and since crop sowing) while microbial activities in barley treatment evidenced an intermediate position (cumulative precipitations over 30 days and average temperature over 90 days) between oilseed rape and pea.

Effect of microbial abundances and activities on net N and S mineralization

Net N and S and mineralization measured in lab conditions over 28 days incubation were influenced by the sampling year but only net N mineralization was influenced by crop species, being higher under R/W than under B/W (Fig. 5). The link between the microbial variables and net N and S mineralization was assessed by a RDA with the microbial activities and abundances as explanatory variables (Fig. 6). Net N and S mineralization was best explained by the two enzymatic activities, i.e. arylsulfatase and protease activities, and by the abundance of culturable arylsulfatase bacteria. Both N and S net mineralization were negatively correlated with arylsulfatase activity ($r^2=0.31$, $p<0.001$ and 0.38 , $p<0.001$ respectively), while S net mineralization was slightly positively correlated with the abundance of arylsulfatase bacteria ($r^2=0.10$, $p<0.05$) and N net mineralization slightly correlated with the protease activity ($r^2=0.13$, $p<0.01$).

Discussion

Plant species effect on microbial abundances

In accordance with our first hypothesis, microbial abundances were influenced by the crop species. Both bacteria and fungi estimated by molecular methods (16S rDNA, 18S rDNA) were more abundant under winter oilseed rape than under spring pea. The mean values under barley appeared intermediate between those measured under oilseed rape and pea. Spring pea, because of a short growing period, could produce a lower root biomass compared to winter crops like barley or oilseed rape and provide in turn limited carbon input to soil. Great differences in root biomass production and

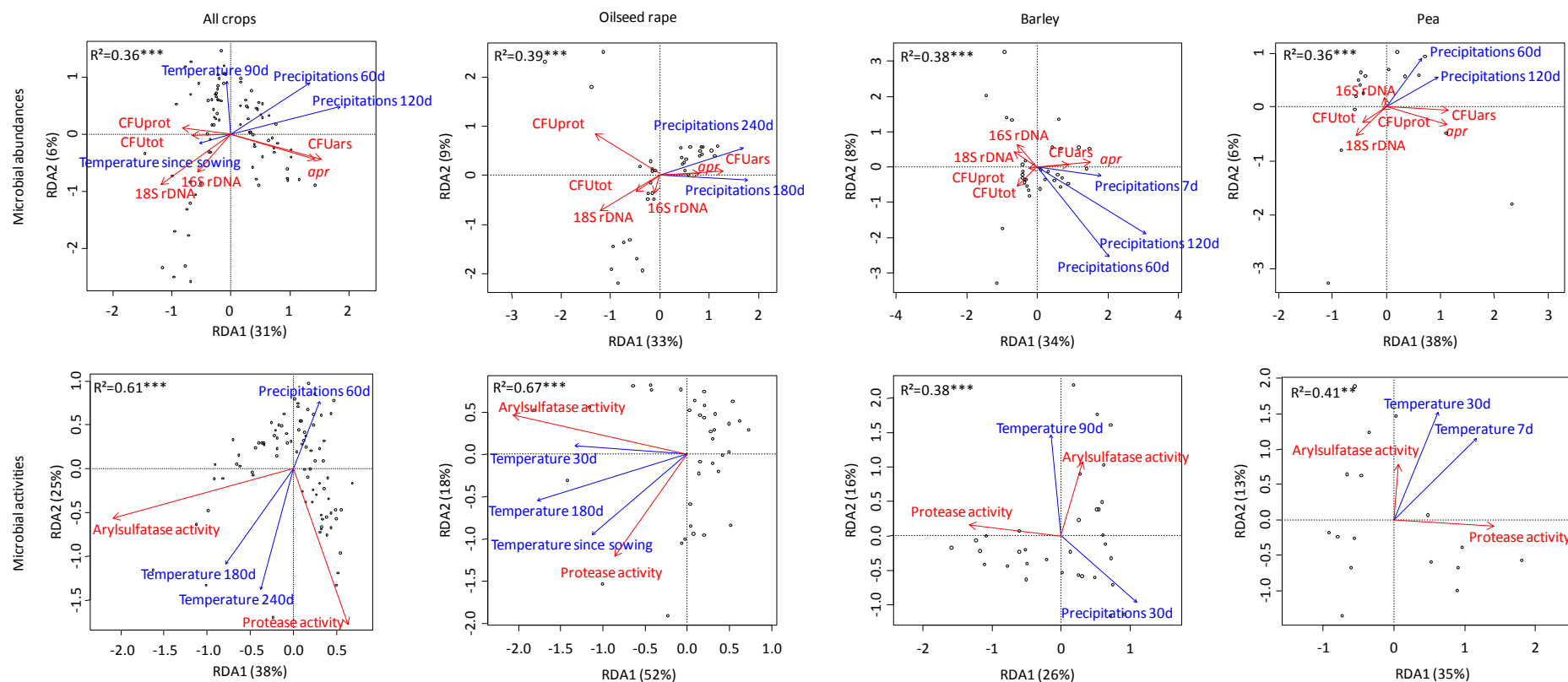


Fig. 4 Redundancy analysis correlation biplots of microbial abundances and enzymatic activities in relation to the meteorological factors. Blue lines are meteorological factors (explanatory variables), red lines are microbial variables (dependent variables). The set of explanatory variables is composed of the mean temperature and the precipitations cumulation over different time scales, from 7 to 240 days. Only significant explanatory variables selected through a forward procedure are represented. The RDAs were significant at $P < 0.01$ (**) or $P < 0.001$ (***). CFUtot: abundance of total culturable bacteria; CFUprot: abundance of culturable bacteria with protease activity; CFUars: abundance of culturable bacteria with arylsulfatase activity

Table 4 Correlation matrices between meteorological variables and microbial abundances and activities under oilseed rape, barley and dry pea.

All crops					Oilseed rape			
	Precipitations 60d	Precipitations 120d	Temperature 90d	Temperature since sowing		Precipitations 180d	Precipitations 240d	
Total bacteria	-0.22*	-0.28**	n.s.	n.s.	Total bacteria	n.s.	-0.39*	
Proteolytic bacteria	-0.27*	-0.35***	0.24*	0.25*	Proteolytic bacteria	-0.62***	-0.44**	
Arylsulfatase bacteria	0.42***	0.65***	n.s.	n.s.	Arylsulfatase bacteria	0.71***	0.70***	
<i>apr</i>	0.35**	0.62***	n.s.	n.s.	<i>apr</i>	0.69***	0.66***	
16S rDNA	n.s.	-0.27*	-0.25*	n.s.	16S rDNA	n.s.	n.s.	
18S rDNA	-0.63***	-0.66***	n.s.	n.s.	18S rDNA	-0.61***	-0.72***	
	Temperature 180d	Temperature 240d	Precipitations 60d			Temperature 30d	Temperature 180d	Temperature since sowing
Protease activity	0.37***	0.58***	-0.30**		Protease activity	n.s.	0.52**	0.51**
Arylsulfatase activity	0.59***	0.40***	-0.28**		Arylsulfatase activity	0.56***	0.68***	0.37*

Barley				Pea		
	Precipitations 7d	Precipitations 60d	Precipitations 120d		Precipitations 60d	Precipitations 120d
Total bacteria	n.s.	n.s.	n.s.	Total bacteria	-0.56*	-0.55*
Proteolytic bacteria	0.39*	n.s.	-0.36*	Proteolytic bacteria	n.s.	-0.52*
Arylsulfatase bacteria	0.39*	0.38*	0.64***	Arylsulfatase bacteria	n.s.	0.62**
<i>apr</i>	n.s.	n.s.	0.62***	<i>apr</i>	n.s.	0.54*
16S rDNA	n.s.	-0.50	-0.53	16S rDNA	n.s.	n.s.
18S rDNA	-0.45**	-0.64***	-0.65***	18S rDNA	n.s.	-0.52*
	Temperature 90d	Precipitations 30d			Temperature 7d	Temperature 30d
Protease activity	n.s.	-0.59***		Protease activity	n.s.	n.s.
Arylsulfatase activity	0.54**	n.s.		Arylsulfatase activity	0.51*	0.63**

shoot to root ratio between crop species have been reported in controlled conditions with barley and oilseed rape differing significantly in root dry weights 62 days after emergence (Zagal, 1994). In field conditions, the comparison of total root length revealed mean values about 9.8 km m⁻³ for winter wheat and 12.4 for oilseed rape km m⁻³ (White et al., 2015). The proportion and the distribution

patterns of fine roots which are of great importance in both the uptake of nutrients and carbon rhizodeposition are different between oilseed rape and pea crops (Liu et al., 2010). Composition and amounts of rhizodeposits vary depending on various environmental factors and plant specific factors (e.g. species or growth stage). As the abundance of soil microorganisms is often positively correlated to availability of soluble organic compounds (Wardle, 1998; Dequiedt et al., 2011; Mrkonjic Fuka et al., 2008), the lower abundances in soil cultivated with spring pea could be linked to differences of rhizodeposits. Oilseed rape and barley produce high C rhizodeposition (Swinnen, 1994; Gan et al., 2009), whereas pea releases lower amount of C (Gan et al., 2009) but more readily mineralizable N rhizodeposits (Mayer et al., 2003). The relatively lower C/N ratio of pea

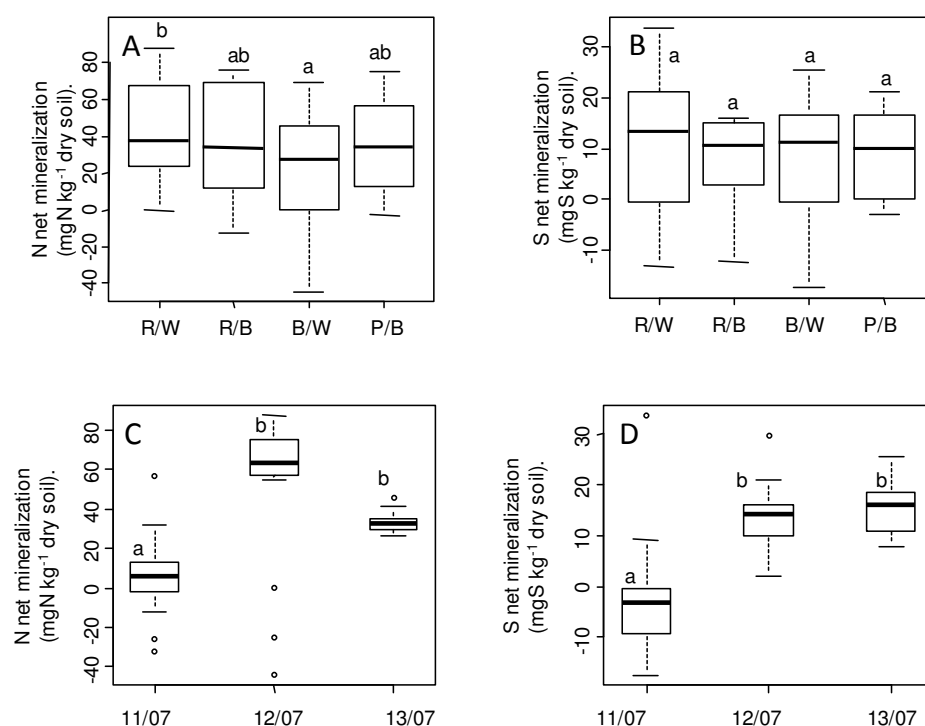


Fig. 5 Boxplots of microbial activities and abundances and N and S net mineralization according to crop (A and B) and sampling date (C and D). R/W: oilseed rape after wheat, R/B: oilseed rape after barley, B/W: barley after wheat, P/B: pea after barley. Values with different letters are significantly different ($p < 0.05$). Boxplots indicate median, interquartiles (25-75%), maximum, minimum and outliers.

roots and rhizodeposits compared to barley (Wichern, 2007a, b) did not influence the 18S rDNA:16S rDNA ratio. However, oilseed rape with an intermediate root C:N between barley and pea (Jensen, 1996; Gan et al., 2011), favored fungi over bacteria compared to the two others crops. Using FAME technique, Solaiman et al. (2007) found a greater abundance of bacteria under oilseed rape than under wheat at flowering stage but not at maturity. The species belonging to the Brassicaceae family produce biocidal compounds (e.g. Isothiocyanates) (Brown and Morra, 1997) such as PEITC that has been detected in the rhizosphere of canola and may influence the microbial community structure

(Rumberger and Marschner 2003, 2004). However, in our study, as soil sampling occurred after flowering, the dominance of fungi could be explained by a higher turnover of fine roots in oilseed rape.

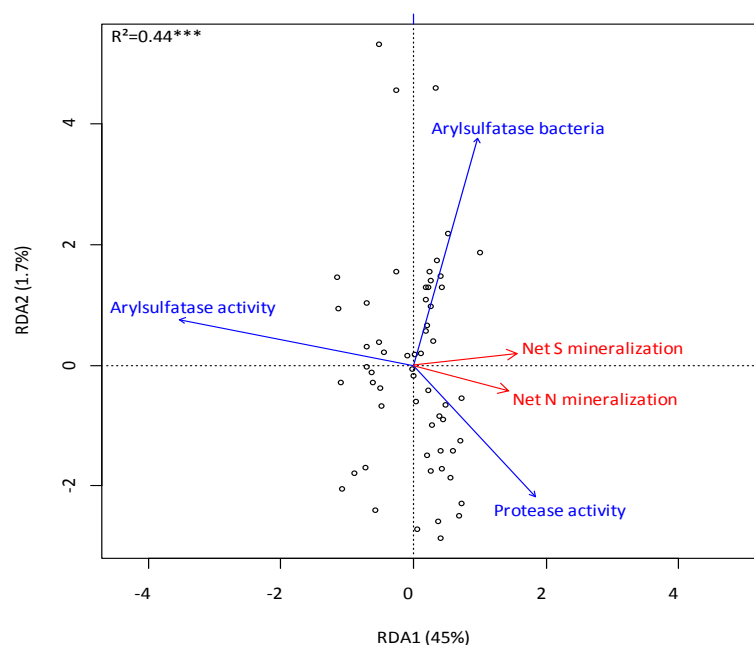


Fig. 6 Redundancy analysis correlation biplots of net N and S mineralization over 28 days incubation in relation to the microbial abundances and enzymatic activities. Blue lines are microbial abundances and enzymatic activities (explanatory variables), red lines are net N and S mineralization (dependent variables). Only significant explanatory variables selected through a forward procedure are represented. The RDA was significant at $P < 0.001$ (***)

The densities of total culturable bacteria did not vary according to the crop species. The discrepancy between the abundance of total bacteria assessed by culture-dependent and molecular methods was not surprising (Leckie et al., 2004; Calbrix et al., 2007). Culturable bacteria are more likely to be copiotrophic bacteria with high growth rates (Davis et al., 2011) while molecular methods determine the abundance of active, dormant and possibly dead bacteria. Furthermore, the number of 16S rDNA copy per cell can vary from 1 to 15 (Klappenbach et al., 2000). The density of culturable ARS producing bacteria was not significantly influenced by crop species. Cregut et al. (2009) observed a higher abundance of this ARS bacterial community under field-grown oilseed rape compared to barley crop. In the latter study, field experiment was conducted on a calcareous soil (a typical rendolls) and rhizosphere soil defined as the root adhering soil was considered. The effect of oilseed rape on ARS bacterial community could be restricted to the rhizosphere area and thus could not be evidenced in our conditions as we sampled global soil (i.e., bulk and rhizosphere soil). No significant plant effect was evidenced on protease bacterial community assessed by culturable dependent approach while the

copy numbers of *apr* genes was lower under pea compared to oilseed rape and barley. The higher *apr* abundance under winter crops could be attributed to a higher root turnover, as root litter could be rich in protein (Trinsoutrot et al., 2001; Rossato et al., 2002), a substrate which could constitute a source of C and energy for this functional group.

Considering all the abundance variables, there was no difference between R/W and R/B suggesting no significant effect of the preceding crop. Preceding crop may alter the microbial community due to differences in terms of crop residues amount and composition. In our study, the two preceding crops are cereals which residues have similar C:N (Cookson et al., 1998). Although barley decompose faster than wheat (Summerell and Burgess, 1989; Cookson et al., 1998; Curtin et al., 2008) due to lower lignin content, this preceding effect was certainly difficult to evidence considering that the soil sampling occurred between 9 to 11 months after residues incorporation.

Plant species effect on microbial activities

Contrary to our second hypothesis, we observed no effect of the crop species on protease and arylsulfatase activity. This was unexpected as a higher arylsulfatase activity has often been observed in oilseed rape rhizosphere compared to wheat or barley rhizosphere (Dedourge et al., 2003; Knauff et al., 2003; Vong et al., 2007; Cregut et al., 2009). As already discussed, the soil considered in our study corresponded to global soil and not to rhizosphere soil. In these conditions, the effect of the plant species on this activity could be more difficult to detect. In soils, different pools of mineralizing enzymes coexist, with differences in terms of regulation. The synthesis of some enzymes could be regulated by C (either rhizodeposits or crop residues), thus creating variable nutrient-limiting conditions, depending on the quality of the C sources (Moorhead et al., 2012). In soil, ARS activity is more highly regulated by the S needs of microorganisms for sustaining growth in response to C additions than by the ester-sulfate presence in crop residues (Piutti et al., 2015). By contrast, some mineralizing enzymes in soil such as protease can be regulated by the presence of substrate (Geisseler and Horwath, 2009b; Allison et al., 2011). In our conditions the growth of crops differing in terms of both rhizodeposition characteristics (e.g. amount and composition) and nitrogen and sulfur requirement revealed no specific change in protease and arylsulfatase activities. This lack of response may be related on one hand to the stabilization of the extracellular part of these enzymes, which constitute most of the protease activity (Vranova et al., 2013) and about half of the arylsulfatase activity (Klose and Tabatabai, 1999), by the high clay constituent of our soil. In clay soils proteolytic activity is not correlated with the copy numbers of genes (*npr* and *sub*) encoding for extracellular

proteases probably due to the stabilization of these enzymes (Fuka et al., 2008a). On the other hand, the availability of the substrates and the nutrient limiting conditions as perceived by microorganisms can be strongly impacted by other factors such as temperature and moisture content of the soil (Redfield, 2002; Allison et al., 2011). As enzymatic activities were strongly responding to meteorological factors in our study, we suppose that the influence of meteorology over passed the influence of crops.

Influence of meteorological conditions on the microbial abundances and activities

According to our third hypothesis, multivariate regression trees (MRTs) revealed that microbial variables were more influenced by sampling dates than crop species. Interestingly, microbial abundances seemed more influenced by interannual variations than microbial activities which are more influenced by seasonal variations. While the strong influence of climate, especially precipitations, on microbial biomass has been already demonstrated at a regional scale, when comparing soils from different climatic zones (Drenovsky et al., 2010; Brockett et al., 2012), our study evidenced this influence at the local scale when comparing three years. The correlations observed in the RDAs between cumulative precipitations, average temperature and microbial variables (e.g. abundances and activities) suggested that the meteorological variables explained a part of the temporal variation. For all crops, cumulative precipitations constituted the principal factor controlling the microbial abundances, average temperature being secondary. At a global scale, mean annual precipitation was recognized as the first driver of microbial biomass (Serna-Chavez et al., 2013). Despite a lack of studies following microbial abundances through molecular (16S rDNA and 18S rDNA) or culture techniques, a strong link was often observed between soil moisture or precipitations and microbial biomass. Contrary to our results, in most of the cases the correlation between microbial biomass and precipitations was positive (Sandor et al., 2011; Zhang et al., 2013; Liu et al., 2010; Serna-Chavez et al., 2013; Chen et al., 2012) but at least one study found a negative correlation (Gray et al., 2011). The negative correlation between microbial abundances and moisture could be attributed to an increase of grazing by nematodes in wetter soils (Gray et al., 2011) or to anoxia (Reichardt et al., 2001; Drenovsky et al., 2010). Indeed, the particularly high cumulative precipitations during the spring period in 2012 and 2013 (Table 1) have probably increased the water saturation of clay soil in surface. The positive correlation between the density of arylsulfatase bacterial community and cumulative precipitations is in accordance with the results already obtained under oilseed rape grown on the same soil (Goux et al., 2012).

The variability of protease and arylsulfatase activities is better explained by average temperature than by cumulative precipitations with both activities positively correlated to average temperature and negatively correlated with cumulative precipitations. Protease, as well as arylsulfatase activity, has often been found influenced by precipitations and soil moisture (Mancinelli et al., 2013; Sardans and Penuelas, 2005; Gispert et al., 2013; Dilly et al., 2007; Fekete et al., 2012; Vanegas et al., 2013; Brockett et al., 2012). The observations of a positive correlation between temperature and protease (Fraser et al., 2013) and arylsulfatase activities (Kang and Freeman, 1999) are scarce. The determinants of this relation remained unclear but increasing temperature could induce many changes related to (i) rhizodeposition (Uselman et al., 2000), (ii) microbial communities in terms of abundance and structure (Barcenas-Moreno et al., 2009; Castro et al., 2010; Gray et al., 2011), particularly the fungal/bacterial ratio (Zhang et al., 2005), (iii) microbial biomass turnover (Joergensen et al., 1990; Wu et al., 2010), (iv) enzyme synthesis rate (due to modification of substrate diffusion or products consumption; Zhang et al., 2013). Despite we cannot conclude on the origin of the temperature effect, we could partly attribute it to changes in microbial abundances which are weakly positively correlated to temperatures. The better correlation of average temperature with arylsulfatase activity compared to protease activity is related to the close relation existing between arylsulfatase activity and soil organic carbon (Deng et Tabatabai, 1997) and therefore microbial biomass.

The comparison of RDAs obtained for each crop evidenced that the relationship between cumulative precipitations and microbial abundances seemed to be little affected by the crop species judging by the similarity of the determination coefficients of RDA for the three crops (Fig. 4). The trend was different considering the relationship between average temperature and microbial activities with higher temperature effect under oilseed rape ($R^2 = 0.67$) compared to barley ($R^2 = 0.38$) or pea ($R^2 = 0.41$). Under oilseed rape microbial abundances were influenced by cumulative precipitations over longer timescales (180 and 240 days before the sampling date) than under barley and pea (60 and 120 days before the sampling date). Furthermore, microbial activities were influenced by average temperature calculated over different timescales: shorter under pea (7 and 30 days), intermediate under barley (90 days) and larger under oilseed rape (180 days and since sowing, i.e. more than 260 days). Such a discrepancy in the meteorology influence on enzymatic activities under plants of differing cycle length has not been reported before, to our knowledge. In the case of oilseed rape, the dependence of microbial communities on cumulative precipitations and average temperature over longer timescales could thus be due to modification of either the plant carbon allocation (Chen et al., 2007) and/or of fine root distribution patterns (Quijano et al., 2013), causing lasting changes in the soil conditions such as C and nutrients availability.

Influence of crop species and meteorology conditions on N and S mineralization

The influence of crop species and climate on microbial abundances and activities resulted in variations of N and S net mineralization. Among the measured microbial variables, net mineralization fluxes of N and S were best explained by protease and arylsulfatase activities and by the abundance of culturable bacteria possessing arylsulfatase activity. This result is in accordance with the studies observing a positive correlation between protease activity and gross N mineralization (Zaman et al., 1999; Mishra et al., 2005) and net N mineralization (Shindo, 1992). It is also in accordance with the observation by Jan et al. (2009) that protease activity is the limiting step of N mineralization in grasslands soils. If protease activity appears to be a key N cycle enzyme in arable soils as well as grassland soils, the abundances of microbial functional groups (revealed by cultural dependent or independent techniques) are not correlated with this activity. Arylsulfatase activity is often used as an indicator microorganisms' nutritional status (Goodwin et al., 2000; Puglisi et al., 2006), as arylsulfatases realize one of the last steps of S mineralization and are directly linked to the microbial biomass. The explanatory power of arylsulfatase activity is thus confirmed by our study. S net mineralization was negatively correlated with arylsulfatase activity. Arylsulfatase has often been found positively correlated to net S mineralization (Riffaldi et al., 2006; Balota et al., 2014) but also to gross S immobilization (Dedourge et al., 2003, 2004; Vong et al., 2003, 2008). Thus an increase in arylsulfatase activity may induce a net release of sulfates only if there are non-limiting sulfate conditions for microbial growth. The abundance of culturable bacteria possessing arylsulfatase activity is slightly but positively correlated with S mineralization, but not correlated with arylsulfatase activity. This absence of correlation between arylsulfatase activity and abundance of arylsulfatase bacteria is surprising as positive correlations between these two variables have previously been observed but in rhizosphere soils (Cregut et al., 2009; Slezack-Deschaumes et al., 2012). The lack of correlation was probably due to a too slight influence of labile carbon on microbial biomass.

Additionally, arylsulfatase activity appeared to be a good predictor of net N mineralization. This could be easily explained by the often observed positive correlation of arylsulfatase activity with organic carbon or microbial biomass (Gajda et al., 2013; Klose et al., 1999; Ajwa et al., 1999; Dedourge et al., 2003; Vong et al., 2003; Dedourge et al., 2004) and other microbial enzymatic activities involved in organic matter decomposition (Gajda et al., 2013; Ajwa et al., 1999; Perucci et al., 1984; Deng and Tabatabai, 1997).

Despite the ability of crop species to modify mineralization fluxes (Van Der Krift and Berendse, 2001; Hu et al., 2002; Vong et al., 2007; Zhu et al., 2014), the three variables explaining N and S mineralization did not vary according to crop species but were strongly influenced by the meteorology. As a

consequence, and despite potential plant influences on soil processes, N and S mineralization is most likely determined by meteorological conditions in our system. According to the meteorological factors determining protease and arylsulfatase activity as well as abundance of arylsulfatase bacteria, N and S mineralization are likely to be negatively correlated to temperature and precipitations.

Conclusion

The microbial abundances were influenced by the crop species, with a higher abundance of fungi (estimated by 18S rDNA) and a lower abundance of bacteria (estimated by 16S rDNA) and proteolytic bacteria (estimated by *apr* gene) under oilseed rape than under barley and pea. Arylsulfatase and protease activity, as well as the abundance of culturable bacteria were not influenced by the crop species. Nevertheless, all the microbial variables were more influenced by the meteorology than by the crop species, microbial abundances being more influenced by precipitations and microbial activities by temperature. The precipitations and temperature effects on microbial variables depended of the crop species, with a stronger link between temperature and enzymatic activities under oilseed rape than under other crops. It seemed also likely that the influence of meteorology on microbial communities was partly mediated by the plant development. Nevertheless, further studies are required in order to understand the way meteorological factors interact with different plant species to modify microbial abundances and activities. Aerial or root functional traits could be useful tools in this context. This importance of meteorology also highlights the necessity to conduct multiyear data collection when considering the influence of plants on microbial communities. Those combined influences of crop species and meteorology resulted in modifications of N and S net mineralization mainly due to variations of protease activity, arylsulfatase activity and abundance of arylsulfatase bacteria. As enzymatic activities were strongly responding to meteorological factors in our study, we suppose that the influence of meteorology over pass the influence of crops for N and S mineralization.

Références

- Ajwa, H.A., Dell, C.J., Rice, C.W., 1999. Changes in enzyme activities and microbial biomass of tallgrass prairie soil as related to burning and nitrogen fertilization. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 769–777. doi:10.1016/S0038-0717(98)00177-1
- Allison, S.D., Weintraub, M.N., Gartner, T.B., Waldrop, M.P., 2011. Evolutionary-Economic Principles as Regulators of Soil Enzyme Production and Ecosystem Function, in: Shukla, G., Varma, A. (Eds.), *Soil Enzymology*. Springer-Verlag, Berlin, Allemagne, pp. 275–285. doi:10.1007/978-3-642-14225-3

- Bach, H., Tomanova, J., Schloter, M., Munch, J.C., 2002. Enumeration of total bacteria and bacteria with genes for proteolytic activity in pure cultures and in environmental samples by quantitative PCR mediated amplification. *Journal of Microbiological Methods* 49, 235–245.
- Balota, E.L., Yada, I.F., Amaral, H., Nakatani, A.S., Dick, R.P., Coyne, M.S., 2014. Long-term land use influences soil microbial biomass P and S, phosphatase and arylsulfatase activities, and S mineralization in a Brazilian oxisol. *Land Degradation and Development* 25, 397–406. doi:10.1002/ldr.2242
- Bárcenas-Moreno, G., Brandón, M.G., Rousk, J., Bååth, E., 2009. Adaptation of soil microbial communities to temperature: Comparison of fungi and bacteria in a laboratory experiment. *Global Change Biology* 15, 2950–2957. doi:10.1111/j.1365-2486.2009.01882.x
- Bassirirad, H., 2000. Kinetics of nutrient uptake by roots: Responses to global change. *New Phytologist* 147, 155–169.
- Bell, C.W., Asao, S., Calderon, F., Wolk, B., Wallenstein, M.D., 2015. Plant nitrogen uptake drives rhizosphere bacterial community assembly during plant growth. *Soil Biology and Biochemistry* 85, 170–182. doi:10.1016/j.soilbio.2015.03.006
- Berry, P.M., Spink, J., Foulkes, M.J., White, P.J., 2010. The physiological basis of genotypic differences in nitrogen use efficiency in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Field Crops Research* 119, 365–373. doi:10.1016/j.fcr.2010.08.004
- Brockett, B.F.T., Prescott, C.E., Grayston, S.J., 2012. Soil moisture is the major factor influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeoclimatic zones in western Canada. *Soil Biology and Biochemistry* 44, 9–20. doi:10.1016/j.soilbio.2011.09.003
- Brown P.D., Morra M.J., 1997. Control of soil-borne plant pest using glucosinolates containing plant. *Advances in Agronomy* 61:167-231.
- Burke, D.J., 2015. Effects of annual and interannual environmental variability on soil fungi associated with an old-growth, temperate hardwood forest. *FEMS Microbiology Ecology* 91, fiv053–fiv053. doi:10.1093/femsec/fiv053
- Calbrix, R., Barray, S., Chabrierie, O., Fourrie, L., Laval, K., 2007. Impact of organic amendments on the dynamics of soil microbial biomass and bacterial communities in cultivated land. *Applied Soil Ecology* 35, 511–522. doi:10.1016/j.apsoil.2006.10.007
- Castro, H.F., Classen, A.T., Austin, E.E., Norby, R.J., Schadt, C.W., 2010. Soil microbial community responses to multiple experimental climate change drivers. *Applied and Environmental Microbiology* 76, 999–1007. doi:10.1128/AEM.02874-09
- Chamorro, A., Tamagno, L., Bezus, R., Sarandon, J., 2002. Nitrogen accumulation, partition, and nitrogen-use efficiency in canola under different nitrogen availabilities. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 33, 12. doi:10.1081/CSS-120002759
- Chen, M.M., Zhu, Y.G., Su, Y.H., Chen, B.D., Fu, B.J., Marschner, P., 2007. Effects of soil moisture and plant interactions on the soil microbial community structure. *European Journal of Soil Biology* 43, 31–38. doi:10.1016/j.ejsobi.2006.05.001
- Chen, Q.H., Feng, Y., Zhang, Y.P., Zhang, Q.C., Shamsi, I.H., Zhang, Y.S., Lin, X.Y., 2012. Short-Term Responses of Nitrogen Mineralization and Microbial Community to Moisture Regimes in Greenhouse Vegetable Soils. *Pedosphere* 22, 263–272. doi:10.1016/S1002-0160(12)60013-7
- Classen, E.T., Sundqvist, M.K., Henning, J.A., Newman, Gr.S., Moore, J.A.M., Cregger, M.A., Moorhead, L.C., Patterson, C.M., 2015. Direct and indirect effects of climate change on soil microbial and soil microbial-plant interactions : What lies ahead ? *Ecosphere* 6, 1–21.
- Cookson, W.R., Beare, M.H., Wilson, P.E., 1998. Effects of prior crop residue management on microbial properties and crop residue decomposition. *Applied Soil Ecology* 7, 179–188. doi:10.1016/S0929-1393(97)00032-2
- Cregut, M., Piutti, S., Slezack-deschaumes, S., Benizri, E., 2013. Compartmentalization and regulation of arylsulfatase activities in *Streptomyces* sp., *Microbacterium* sp. and *Rhodococcus* sp. soil isolates in

-
- response to inorganic sulfate limitation. *Microbiological Research* 168, 12–21. doi:10.1016/j.micres.2012.08.001
- Cregut, M., Piutti, S., Vong, P., Slezack-deschaumes, S., Crovisier, I., Benizri, E., 2009. Density, structure, and diversity of the cultivable arylsulfatase-producing bacterial community in the rhizosphere of field-grown rape and barley. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 704–710. doi:10.1016/j.soilbio.2009.01.005
- Curtin, D., Francis, G.S., McCallum, F.M., 2008. Decomposition rate of cereal straw as affected by soil placement. *Australian Journal Of Soil Research* 46, 152–160.
- Davis, K.E.R., Sangwan, P., Janssen, P.H., 2011. Acidobacteria, Rubrobacteridae and Chloroflexi are abundant among very slow-growing and mini-colony-forming soil bacteria. *Environmental Microbiology* 13, 798–805. doi:10.1111/j.1462-2920.2010.02384.x
- Dedourge, O., Vong, P., Benizri, É., Lasserre-joulin, F., Guckert, A., 2003. Immobilization of sulphur-35, microbial biomass and arylsulphatase activity in soils from field-grown rape, barley and fallow. *Biology and Fertility of Soils* 38, 181–185. doi:10.1007/s00374-003-0646-x
- Dedourge, O., Vong, P.C., Lasserre-Joulin, F., Benizri, E., Guckert, A., 2004. Effects of glucose and rhizodeposits (with or without cysteine-S) on immobilized-35S, microbial biomass-35S and arylsulphatase activity in a calcareous and an acid brown soil. *European Journal of Soil Science* 55, 649–656. doi:10.1111/j.1365-2389.2004.00645.x
- Delogu, G., Cattivelli, L., Pecchioni, N., De Falcis, D., Maggiore, T., Stanca, a. M., 1998. Uptake and agronomic efficiency of nitrogen in winter barley and winter wheat. *European Journal of Agronomy* 9, 11–20. doi:10.1016/S1161-0301(98)00019-7
- Deng, S.P., Tabatabai, M.A., 1997. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils : III. Phosphatases and arylsulfatases. *Biology and Fertility of Soils* 24, 141–146.
- Dequiedt, S., Saby, N.P.A., Lelievre, M., Jolivet, C., Thioulouse, J., Toutain, B., Arrouays, D., Bispo, A., Lemanceau, P., Ranjard, L., 2011. Biogeographical patterns of soil molecular microbial biomass as influenced by soil characteristics and management. *Global Ecology and Biogeography* 20, 641–652. doi:10.1111/j.1466-8238.2010.00628.x
- Dilly, O., Munch, J.C., Pfeiffer, E., 2007. Enzyme activities and litter decomposition in agricultural soils in northern, central, and southern Germany. *Journal Of Plant Nutrition And Soil Science* 170, 197–204. doi:10.1002/jpln.200622044
- Dinesh, R., Suryanarayana, M.A., Chaudhuri, S.G., Sheeja, T.E., 2004. Long-term influence of leguminous cover crops on the biochemical properties of a sandy clay loam Fluventic Sulfaquent in a humid tropical region of India. *Soil and Tillage Research* 77, 69–77. doi:10.1016/j.still.2003.11.001
- Drenovsky, R., Steenwerth, K., Jackson, L., Scow, K.M., 2010. Land use and climatic factors structure regional patterns in soil microbial communities. *National Institute of Health* 19, 27–39. doi:10.1111/j.1466-8238.2009.00486.x.Land
- Eckersten, H., Lundkvist, a, Torssell, B., 2010. Comparison of monocultures of perennial sow-thistle and spring barley in estimated shoot radiation-use and nitrogen-uptake efficiencies. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science* 60, 126–135. doi:Pii 913433622\nDoi 10.1080/09064710902721347
- Ezekiel, M., 1930. *Methods of correlational analysis*. Wiley, New York.
- Fekete, I., Kotroczó, Z., Varga, C., Hargitai, R., Townsend, K., Csányi, G., Várbiro, G., 2012. Variability of organic matter inputs affects soil moisture and soil biological parameters in a european detritus manipulation experiment. *Ecosystems* 15, 792–803. doi:10.1007/s10021-012-9546-y
- Fierer, N., Schimel, J.P., Holden, P. a., 2003. Influence of drying-rewetting frequency on soil bacterial community structure. *Microbial Ecology* 45, 63–71. doi:10.1007/s00248-002-1007-2
- Fierer, N., Strickland, M.S., Liptzin, D., Bradford, M.A., Cleveland, C.C., 2009. Global patterns in belowground communities. *Ecology Letters* 12, 1238–1249. doi:10.1111/j.1461-0248.2009.01360.x

- Franzluebbers, A.J., Haney, R.L., Honeycutt, C.W., Arshad, M.A., Schomberg, H.H., Hons, F.M., 2001. Climatic influences on active fractions of soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 33, 1103–1111. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0038-0717\(01\)00016-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0038-0717(01)00016-5)
- Fraser, F.C., Hallett, P.D., Wookey, P.A., Hartley, I.P., Hopkins, D.W., 2013. How do enzymes catalysing soil nitrogen transformations respond to changing temperatures? *Biology and Fertility of Soils* 49, 99–103. doi:[10.1007/s00374-012-0722-1](https://doi.org/10.1007/s00374-012-0722-1)
- Gajda, A.M., Przewłoka, B., Gawryjolek, K., 2013. Changes in soil quality associated with tillage system applied. *International Agrophysics* 27, 133–141. doi:[DOI 10.2478/v10247-012-0078-7](https://doi.org/10.2478/v10247-012-0078-7)
- Gan, Y.T., Campbell, C. a, Janzen, H.H., Lemke, R., Liu, L.P., Basnyat, P., McDonald, C.L., 2009. Root mass for oilseed and pulse crops: Growth and distribution in the soil profile. *Canadian Journal of Plant Science* 89, 883–893. doi:[10.4141/CJPS08154](https://doi.org/10.4141/CJPS08154)
- Gan, Y.T.A., Liang, B.C.B., Liu, L.P.C., Wang, X.Y.A., McDonald, C.L.A., 2011. C:N ratios and carbon distribution profile across rooting zones in oilseed and pulse crops. *Crop and Pasture Science* 62, 496–503.
- Geisseler, D., Horwath, W.R., 2009. Relationship between carbon and nitrogen availability and extracellular enzyme activities in soil. *Pedobiologia* 53, 87–98. doi:[10.1016/j.pedobi.2009.06.002](https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2009.06.002)
- Geisseler, D., Horwath, W.R., 2008. Regulation of extracellular protease activity in soil in response to different sources and concentrations of nitrogen and carbon. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 3040–3048. doi:[10.1016/j.soilbio.2008.09.001](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.09.001)
- Geisseler, D., Horwath, W.R., Scow, K.M., 2011. Soil moisture and plant residue addition interact in their effect on extracellular enzyme activity. *Pedobiologia* 54, 71–78. doi:[10.1016/j.pedobi.2010.10.001](https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2010.10.001)
- Gispert, M., Emran, M., Pardini, G., Doni, S., Ceccanti, B., 2013. The impact of land management and abandonment on soil enzymatic activity , glomalin content and aggregate stability. *Geoderma* 202–203, 51–61. doi:[10.1016/j.geoderma.2013.03.012](https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2013.03.012)
- Goodwin, P.H., Li, J., Jin, S., 2000. Evidence for sulfate derepression of an arylsulfatase gene of *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *malvae* during infection of round-leaved mallow, *Malva pusilla*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 57, 169–176. doi:[10.1016/S0378-1097\(01\)00303-2](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(01)00303-2)
- Goux, X., Amiaud, B., Piutti, S., Philippot, L., Benizri, E., 2012. Spatial distribution of the abundance and activity of the sulfate ester-hydrolyzing microbial community in a rape field. *Journal of Soils and Sediments* 12, 1360–1370. doi:[10.1007/s11368-012-0555-4](https://doi.org/10.1007/s11368-012-0555-4)
- Gray, S.B., Classen, A.T., Kardol, P., Yermakov, Z., Michael Mille, R., 2011. multiple climate change factors interact to alter soil microbial community structure in an old-field ecosystem. *Soil Science Society of America Journal* 75, 2217. doi:[10.2136/sssaj2011.0135](https://doi.org/10.2136/sssaj2011.0135)
- Gschwendtner, S., Reichmann, M., Müller, M., Radl, V., Munch, J.C., 2010. Abundance of bacterial genes encoding for proteases and chitinases in the rhizosphere of three different potato cultivars. *Biology and Fertility of Soils* 46, 649–652. doi:[10.1007/s00374-010-0460-1](https://doi.org/10.1007/s00374-010-0460-1)
- Gutknecht, J.L.M., Field, C.B., Balser, T.C., 2012. Microbial communities and their responses to simulated global change fluctuate greatly over multiple years. *Global Change Biology* 18, 2256–2269. doi:[10.1111/j.1365-2486.2012.02686.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2012.02686.x)
- Hargreaves, S.K., Hofmockel, K.S., 2014. Physiological shifts in the microbial community drive changes in enzyme activity in a perennial agroecosystem. *Biogeochemistry* 117, 67–79. doi:[10.1007/s10533-013-9893-6](https://doi.org/10.1007/s10533-013-9893-6)
- Hargreaves, S.K., Williams, R.J., Hofmockel, K.S., 2015. Environmental filtering of microbial communities in agricultural soil shifts with crop growth. *Plos One* 10, e0134345. doi:[10.1371/journal.pone.0134345](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134345)
- Haynes, R.J., Francis, G.H., 1993. Changes in microbial biomass C, soil carbohydrate composition and aggregate stability induced by growth of selected crop and forage species under field conditions. *Journal of Soil Science* 44, 665–675.
- Henry, H. a. L., 2013. Reprint of “Soil extracellular enzyme dynamics in a changing climate.” *Soil Biology and Biochemistry* 56, 53–59. doi:[10.1016/j.soilbio.2012.10.022](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.10.022)

-
- Hu, Z., Yang, Z., Xu, C., Haneklaus, S., Cao, Z., Schnug, E., 2002. Effect of crop growth on the distribution and mineralization of soil sulfur fractions in the rhizosphere. *Journal Of Plant Nutrition And Soil Science* 165, 249–254.
- Inselsbacher, E., Hinko-Najera Umana, N., Stange, F.C., Gorfer, M., Schüller, E., Ripka, K., Zechmeister-Boltenstern, S., Hood-Novotny, R., Strauss, J., Wanek, W., 2010. Short-term competition between crop plants and soil microbes for inorganic N fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 360–372. doi:10.1016/j.soilbio.2009.11.019
- Jan, M.T., Roberts, P., Tonheim, S.K., Jones, D.L., 2009. Protein breakdown represents a major bottleneck in nitrogen cycling in grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 2272–2282. doi:10.1016/j.soilbio.2009.08.013
- Jensen, E.S., 1996. Rhizodeposition of N by pea and barley and its effect on soil N dynamics. *Soil Biology and Biochemistry* 28, 65–71.
- Joergensen, R.G., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1990. Survival of the soil microbial biomass at elevated temperatures. *Soil Biology and Biochemistry* 22, 1129–1136. doi:10.1016/0038-0717(90)90039-3
- Jones, D.L., Shannon, D., Murphy, D. V, Farrar, J., 2004. Role of dissolved organic nitrogen (DON) in soil N cycling in grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 749–756. doi:10.1016/j.soilbio.2004.01.003
- Kaiser, C., Koranda, M., Kitzler, B., Fuchslueger, L., Schnecker, J., Schweiger, P., Rasche, F., Zechmeister-Boltenstern, S., Sessitsch, a, Richter, a, 2010. Belowground carbon allocation by trees drives seasonal patterns of extracellular enzyme activities by altering microbial community composition in a beech forest soil. *New Phytologist* 187, 843–858. doi:DOI 10.1111/j.1469-8137.2010.03321.x
- Kang, H., Freeman, C., 1999. Phosphatase and arylsulphatase activities in wetland soils: Annual variation and controlling factors. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 449–454. doi:10.1016/S0038-0717(98)00150-3
- Kessel, B., Schierholt, a., Becker, H.C., 2012. Nitrogen use efficiency in a genetically diverse set of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Crop Science* 52, 2546–2554. doi:10.2135/cropsci2012.02.0134
- Klappenbach, J.A., Dunbar, J.M., Schmidt, T.M., 2000. Operon copy number reflects ecological strategies of bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 66, 1328–1334. doi:10.1128/AEM.66.4.1328-1333.2000.Updated
- Klose, S., Moore, J., Tabatabai, M., 1999. Arylsulfatase activity of microbial biomass in soils as affected by cropping systems. *Biology and Fertility of Soils* 29, 46–54.
- Klose, S., Tabatabai, M.A., 1999. Arylsulfatase activity of microbial biomass in soils. *Soil Science Society Of America Journal* 63, 569–574.
- Knauff, U., Schulz, M., Scherer, H.W., 2003. Arylsulfatase activity in the rhizosphere and roots of different crop species. *European Journal of Agronomy* 19, 215–223.
- Ladd, J.N., Butler, J.H.A., 1972. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biology and Biochemistry* 4, 19–30. doi:10.1016/0038-0717(72)90038-7
- Lauber, C.L., Ramirez, K.S., Aanderud, Z., Lennon, J., Fierer, N., 2013. Temporal variability in soil microbial communities across land-use types. *The ISME Journal* 7, 1641–1650. doi:10.1038/ismej.2013.50
- Lauber, C.L., Strickland, M.S., Bradford, M.A., Fierer, N., 2008. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 2407–2415. doi:10.1016/j.soilbio.2008.05.021
- Lê, S., Josse, J., Husson, F., 2008. FactoMineR: an R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software* 25, 1–17.
- Leckie, S.E., Prescott, C.E., Grayston, S.J., Neufeld, J.D., Mohn, W.W., 2004. Comparison of chloroform fumigation-extraction, phospholipid fatty acid, and DNA methods to determine microbial biomass in forest humus. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 529–532. doi:10.1016/j.soilbio.2003.10.014

- Lee, S.Y., Bollinger, J., Bezdicek, D., Ogram, A., 1996. Estimation of the abundance of an uncultured soil bacterial strain by a competitive quantitative PCR method . *Applied and Environmental Microbiology* 62, 3787–3793.
- Legay, N., Personeni, E., Slezack-Deschaumes, S., Piutti, S., Cliquet, J.B., 2014. Grassland species show similar strategies for sulphur and nitrogen acquisition. *Plant and Soil* 375, 113–126. doi:10.1007/s11104-013-1949-9
- Legendre, P., Legendre, L., 1998. *Numerical Ecology*. Second English Edition, Elsevier Science B.V., Amsterdam.
- Liu, L., Gan, Y., Bueckert, R., Van Rees, K., Warkentin, T., 2010. Fine root distributions in oilseed and pulse crops. *Crop Science* 50, 222. doi:10.2135/cropsci2009.03.0156
- Lipson, D.A., Schmidt, S.K., Monson, R.K., 1999. Links between microbial population dynamics and nitrogen availability in an alpine ecosystem. *Ecology* 80, 1623–1631.
- Lopez-Gutierrez, J.C., Henry, S., Hallet, S., Martin-Laurent, F., Catroux, G., Philippot, L., 2004. Quantification of a novel group of nitrate-reducing bacteria in the environment by real-time PCR. *Journal of Microbiological Methods* 57, 399–407. doi:10.1016/j.mimet.2004.02.009
- Mahieu, S., Germon, F., Aveline, A., Hauggaard-Nielsen, H., Ambus, P., Jensen, E.S., 2009. The influence of water stress on biomass and N accumulation, N partitioning between above and below ground parts and on N rhizodeposition during reproductive growth of pea (*Pisum sativum* L.). *Soil Biology and Biochemistry* 41, 380–387. doi:10.1016/j.soilbio.2008.11.021
- Mancinelli, R., Marinari, S., di Felice, V., Savin, M.C., Campiglia, E., 2013. Soil property , CO₂ emission and aridity index as agroecological indicators to assess the mineralization of cover crop green manure in a Mediterranean environment. *Ecological Indicators* 34, 31–40. doi:10.1016/j.ecolind.2013.04.011
- Mayer, J., Buegger, F., Steen, E.S., Schlöter, M., Heß, J., 2003. Estimating N rhizodeposition of grain legumes using a in situ stem labelling method. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 21–28.
- Mishra, S., Di, H.J., Cameron, K.C., Monaghan, R., Carran, A., 2005. Gross nitrogen mineralisation rates in pastoral soils and their relationships with organic nitrogen fractions, microbial biomass and protease activity under glasshouse conditions. *Biology and Fertility of Soils* 42, 45–53. doi:10.1007/s00374-005-0863-6
- Moorhead, D.L., Lashermes, G., Sinsabaugh, R.L., 2012. A theoretical model of C- and N-acquiring exoenzyme activities, which balances microbial demands during decomposition. *Soil Biology & Biochemistry* 53, 133–141. doi:DOI 10.1016/j.soilbio.2012.05.011
- Mougel, C., Offre, P., Ranjard, L., Corberand, T., Gamalero, E., Robin, C., Lemanceau, P., 2006. Dynamic of the genetic structure of bacterial and fungal communities at different developmental stages of bacterial and fungal communities at different developmental stages of *Medicago truncatula* Gaertn. cv. Jemalong line J5. *New Phytologist* 170, 165–175. doi:10.1111/j.1469-8137.2006.01650.x
- Mrkonjic Fuka, M.M., Engel, M., Gattinger, A., Bausenwein, U., Sommer, M., Munch, J.C., Schlöter, M., 2008. Factors influencing variability of proteolytic genes and activities in arable soils. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 1646–1653. doi:10.1016/j.soilbio.2008.01.028
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P.R., O'Hara, R.B., Simpson, G.L., Peter Solymos, M., Stevens, H.H., Wagner, H., 2013. *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.0-9.
- Parkin, T.B., Kaspar, T.C., Cambardella, C., 2002. Oat plant effects on net nitrogen mineralization. *Plant and Soil* 243, 187–195. doi:10.1023/A:1019949727575
- Perucci, P., Scarponi, L., Businelli, M., 1984. Enzyme activities in a clay-loam soil amended with various crop residues. *Plant and Soil* 1, 345–351.
- Piutti, S., Slezack-Deschaumes, S., Niknahad-Gharmakher, H., Vong, P.-C., Recous, S., Benizri, E., 2015. Relationships between the density and activity of microbial communities possessing arylsulfatase activity and soil sulfate dynamics during the decomposition of plant residues in soil. *European Journal of Soil Biology* 70, 88–96. doi:10.1016/j.ejsobi.2015.07.007
- Pohlert, T., 2014. *The Pairwise Multiple Comparison of Mean Ranks Package (PMCMR)*. R Package.

-
- Prévost-Bourré, N.C., Christen, R., Dequiedt, S., Mougel, C., Lelivre, M., Jolivet, C., Shahbazkia, H.R., Guillou, L., Arrouays, D., Ranjard, L., 2011. Validation and Application of a PCR Primer Set to Quantify Fungal Communities in the Soil Environment by Real-Time Quantitative PCR. *PLoS ONE* 6, 1–13. doi:10.1371/journal.pone.0024166
- Puglisi, E., Del Re, A.A.M., Rao, M.A., Gianfreda, L., 2006. Development and validation of numerical indexes integrating enzyme activities of soils. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 1673–1681. doi:10.1016/j.soilbio.2005.11.021
- Quijano, J.C., Kumar, P., Drewry, D.T., 2013. Passive regulation of soil biogeochemical cycling by root water transport. *Water Resources Research* 49, 3729–3746. doi:10.1002/wrcr.20310
- Reardon, C.L., Gollany, H.T., Wuest, S.B., 2014. Diazotroph community structure and abundance in wheat-fallow and wheat-pea crop rotations. *Soil Biology and Biochemistry* 69, 406–412. doi:10.1016/j.soilbio.2013.10.038
- Redfield, R.J., 2002. Is quorum sensing a side effect of diffusion sensing? *Trends in Microbiology* 10, 365–370. doi:10.1016/S0966-842X(02)02400-9
- Reichardt, W., Briones, a., De Jesus, R., Padre, B., 2001. Microbial population shifts in experimental rice systems. *Applied Soil Ecology* 17, 151–163. doi:10.1016/S0929-1393(01)00122-6
- Richard, F., Roy, M., Shahin, O., Sthultz, C., Duchemin, M., Joffre, R., Selosse, M.A., 2011. Ectomycorrhizal communities in a Mediterranean forest ecosystem dominated by *Quercus ilex*: Seasonal dynamics and response to drought in the surface organic horizon. *Annals of Forest Science* 68, pp 57–68. doi:10.1007/s13595-010-0007-5
- Riffaldi, R., Saviozzi, A., Cardelli, R., Cipolli, S., Levi-Minzi, R., 2006. Sulphur mineralization kinetics as influenced by soil properties. *Biology and Fertility of Soils* 22, 293–298. doi:A kinetic description of crop residue decomposition makes assessment of the global C cycle and nutrient cycling possible for a wide variety of crop production systems. It was the objective of this study to compare decomposition kinetics of soybean [Glycin
- Rossato, L., Le Dantec, C., Laine, P., Ourry, a, 2002. Nitrogen storage and remobilization in *Brassica napus* L. during the growth cycle: identification, characterization and immunolocalization of a putative taproot storage glycoprotein. *Journal of Experimental Botany* 53, 265–75. doi:10.1093/jexbot/53.367.265
- Rumberger, a., Marschner, P., 2003. 2-Phenylethylisothiocyanate concentration and microbial community composition in the rhizosphere of canola. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 445–452. doi:10.1016/S0038-0717(02)00296-1
- Rutkowska, A., Pikuła, D., Stępień, W., 2014. Nitrogen use efficiency of maize and spring barley under potassium fertilization in long-term field experiment. *Plant Soil and Environment* 60, 550–554.
- Sandor, M.S., Brad, T., Maxim, A., Toader, C., 2011. The influence of selected meteorological factors on microbial biomass and mineralization of two organic fertilizers. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 39, 107–113.
- Sardans, J., Peñuelas, J., 2005. Drought decreases soil enzyme activity in a Mediterranean *Quercus ilex* L. forest. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 455–461. doi:10.1016/j.soilbio.2004.08.004
- Sardans, J., Peñuelas, J., Estiarte, M., 2008. Changes in soil enzymes related to C and N cycle and in soil C and N content under prolonged warming and drought in a Mediterranean shrubland. *Applied Soil Ecology* 39, 223–235. doi:10.1016/j.apsoil.2007.12.011
- Schjønning, P., Munkholm, L.J., Elmholt, S., Olesen, J.E., 2007. Organic matter and soil tilth in arable farming: Management makes a difference within 5-6 years. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 122, 157–172. doi:10.1016/j.agee.2006.12.029
- Serna-Chavez, H.M., Fierer, N., Van Bodegom, P.M., 2013. Global drivers and patterns of microbial abundance in soil. *Global Ecology and Biogeography* 22, 1162–1172. doi:10.1111/geb.12070
- Shindo, H., 1992. Effect of continuous compost application on the activities of protease, beta-acetylglucosaminidase, and adenosine deaminase in soils of upland fields and relationships between the

- enzyme activities and the mineralization of organic nitrogen. *Japanese Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 63, 190–195.
- Sims, G.K., Wander, M.M., 2002. Proteolytic activity under nitrogen or sulfur limitation. *Applied Soil Ecology* 19, 217–221.
- Sinsabaugh, R.L., Lauber, L., Weintraub, M.N., Ahmed, B., Allison, S.D., Crenshaw, C., Contosta, A.R., Cusack, D., Frey, S., Gallo, M.E., Gartner, T.B., Sarah E Hobbie, Holland, K., Keeler, B.L., Powers, J.S., Stursova, M., Takacs-Vesbach, C., Waldrop, M.P., Wallenstein, M.D., Zak, D.R., Zeglin, L.H., 2008. Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. *Ecology Letters* 11, 1252–1264. doi:10.1111/j.1461-0248.2008.01245.x
- Slezack-Deschaumes, S., Piutti, S., Vong, P., Benizri, E., 2012. Dynamics of cultivable arylsulfatase-producing bacterial and fungal communities along the phenology of field-grown rape. *European Journal of Soil Biology* 48, 66–72. doi:10.1016/j.ejsobi.2011.07.014
- Solaiman, Z., Marschner, P., Wang, D., Rengel, Z., 2007. Growth, P uptake and rhizosphere properties of wheat and canola genotypes in an alkaline soil with low P availability. *Biology and Fertility of Soils* 44, 143–153. doi:10.1007/s00374-007-0188-8
- Soon, Y.K., Arshad, M.A., Haq, A., Lupwayi, N., 2007. The influence of 12 years of tillage and crop rotation on total and labile organic carbon in a sandy loam soil. *Soil and Tillage Research* 95, 38–46. doi:10.1016/j.still.2006.10.009
- Summerell, B., Burgess, L., 1989. Decomposition and chemical composition of cereal straw. *Soil Biology and Biochemistry* 21, 551–559. doi:10.1016/0038-0717(89)90129-6
- Swinnen, J., 1994. Rhizodeposition and turnover of root-derived organic material in barley and wheat under conventional and integrated management. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 51, 115–128. doi:10.1016/0167-8809(94)90038-8
- Tabatabai, M.A., Bremner, J.M., 1970. Arylsulfatase activity of Soils. *Soil Science Society of America Journal* 34, 225–229.
- Trinsoutrot, I., Monrozier, L.J., Cellier, J., Waton, H., Alamerçery, S., 2001. Assessment of the biochemical composition of oilseed rape (*Brassica napus* L.) 13 C-labelled residues by global methods , FTIR and 13 C NMR CP / MAS. *Plant and Soil* 234, 61–72.
- Uelman, S.M., Qualls, R.G., Thomas, R.B., 2000. Effects of increased atmospheric CO₂, temperature, and soil N availability on root exudation of dissolved organic carbon by a N-fixing tree (*Robinia pseudoacacia* L.). *Plant and Soil* 222, 191–202.
- Van der Krift, T. a. J., Berendse, F., 2001. The effect of plant species on soil nitrogen mineralization. *Journal of Ecology* 89, 555–561. doi:10.1046/j.0022-0477.2001.00580.x
- Vanegas, J., Landazabal, G., Melgarejo, L.M., Beltran, M., Uribe-Vélez, D., 2013. Structural and functional characterization of the microbial communities associated with the upland and irrigated rice rhizospheres in a neotropical Colombian savannah. *European Journal of Soil Biology* 55, 1–8. doi:10.1016/j.ejsobi.2012.10.008
- Varin, S., Cliquet, J., Personeni, E., Avicé, J., Lemauiel-Lavenant, S., 2010. How does sulphur availability modify N acquisition of white clover (*Trifolium repens* L.)? *Journal of Experimental Botany* 61, 225–234. doi:10.1093/jxb/erp303
- Vaughn, K.J., Young, T.P., 2010. Contingent conclusions: Year of initiation influences ecological field experiments, but temporal replication is rare. *Restoration Ecology* 18, 59–64. doi:10.1111/j.1526-100X.2010.00714.x
- Vong, P., Dedourge, O., Lasserre-Joulin, F., Guckert, A., 2003. Immobilized-S , microbial biomass-S and soil arylsulfatase activity in the rhizosphere soil of rape and barley as affected by labile substrate C and N additions. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 1651–1661. doi:10.1016/j.soilbio.2003.08.012
- Vong, P., Piutti, S., Slezack-Deschaumes, S., Benizri, E., Guckert, A., 2008. Sulphur immobilization and arylsulphatase activity in two calcareous arable and fallow soils as affected by glucose additions. *Geoderma* 148, 79–84. doi:10.1016/j.geoderma.2008.09.008

-
- Vong, P., Piutti, S., Slezack-Deschaumes, S., Benizri, E., Robin, C., Guckert, A., 2007. Water-soluble carbon in roots of rape and barley : impacts on labile soil organic carbon, arylsulphatase activity and sulphur mineralization. *Plant and Soil* 294, 19–29. doi:10.1007/s11104-007-9201-0
- Vranova, V., Rejsek, K., Formanek, P., 2013. Proteolytic activity in soil: A review. *Applied Soil Ecology* 70, 23–32. doi:10.1016/j.apsoil.2013.04.003
- Waldrop, M.P., Firestone, M.K., 2006. Seasonal dynamics of microbial community composition and function in oak canopy and open grassland soils. *Microbial Ecology* 52, 470–479. doi:10.1007/s00248-006-9100-6
- Walker, K.C., Booth, E.J., 1992. Sulphur research on oilseed rape in Scotland. *Sulphur in Agriculture* 15–19.
- Walker, D.R., Doornenbal, G., 1972. Soil Sulfate II. As an index of the sulfur available to legumes. *Canadian Journal of Soil Science* 52, 261–266.
- Wardle, D.A., 1998. Controls Of Temporal Variability Of The Soil Microbial Biomass : A global-scale synthesis. *Soil Biology and Biochemistry* 30, 1627–1637.
- Watanabe, K., Hayano, K., 1995. Seasonal variation of soil protease activities and their relation to proteolytic bacteria and *Bacillus* spp. in paddy field soil. *Soil Biology and Biochemistry* 27, 197–203. doi:10.1016/0038-0717(94)00153-R
- White, C.A., Sylvester-Bradley, R., Berry, P.M., 2015. Root length densities of UK wheat and oilseed rape crops with implications for water capture and yield. *Journal of Experimental Botany* 66, 2293–2303. doi:10.1093/jxb/erv077
- Wichern, F., Eberhardt, E., Mayer, J., Joergensen, R.G., Müller, T., 2008. Nitrogen rhizodeposition in agricultural crops: Methods, estimates and future prospects. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 30–48. doi:10.1016/j.soilbio.2007.08.010
- Wichern, F., Mayer, J., Georg, R., Müller, T., 2007a. Rhizodeposition of C and N in peas and oats after ^{13}C – ^{15}N double labelling under field conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2527–2537. doi:10.1016/j.soilbio.2007.04.022
- Wichern, F., Mayer, J., Joergensen, R.G., Müller, T., 2007b. Release of C and N from roots of peas and oats and their availability to soil microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2829–2839. doi:10.1016/j.soilbio.2007.06.006
- Wu, Y., Yu, X., Wang, H., Ding, N., Xu, J., 2010. Does history matter? Temperature effects on soil microbial biomass and community structure based on the phospholipid fatty acid (PLFA) analysis. *Journal of Soils and Sediments* 10, 223–230. doi:10.1007/s11368-009-0118-5
- Wyss, C., 1989. *Campylobacter-Wolinella* group organisms are the only oral bacteria that form arylsulfatase-active colonies on a synthetic indicator medium. *Infection and Immunity* 57, 1380–1383.
- Xuan, D.T., Guong, V.T., Rosling, A., Alström, S., Chai, B., Högborg, N., 2012. Different crop rotation systems as drivers of change in soil bacterial community structure and yield of rice, *Oryza sativa*. *Biology and Fertility of Soils* 48, 217–225. doi:10.1007/s00374-011-0618-5
- Yates, F., 1954. The analysis of experiments containing different crop rotations. *Biometrics* 10, 324–346.
- Yin, C., Jones, K.L., Peterson, D.E., Garrett, K.A., Hulbert, S.H., Paulitz, T.C., 2010. Members of soil bacterial communities sensitive to tillage and crop rotation. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 2111–2118. doi:10.1016/j.soilbio.2010.08.006
- Yuan, L., Bao, D.J., Jin, Y., Yang Y.H., Huang, J.G., 2011. Influence of fertilizers on nitrogen mineralization and utilization in the rhizosphere of wheat. *Advances in Agronomy* 343, 187–193. doi:10.1007/s11104-010-0640-7
- Zagal, E., 1994. Carbon distribution and nitrogen partitioning in a soil-plant system with barley (*Hordeum vulgare* L.), ryegrass (*Lolium perenne*) and rape (*Brassica napus* L.) grown in a ^{14}C CO_2 -atmosphere. *Plant and Soil* 166, 63–74.
- Zaman, M., Di, H.J., Cameron, K.C., Frampton, C.M., 1999. Gross nitrogen mineralization and nitrification rates and their relationships to enzyme activities and the soil microbial biomass in soils treated with dairy shed

- effluent and ammonium fertilizer at different water potentials. *Biology and Fertility of Soils* 29, 178–186. doi:10.1007/s003740050542
- Zhang, N., Liu, W., Yang, H., Yu, X., Gutknecht, J.L.M., Zhang, Z., Wan, S., Ma, K., 2013. Soil microbial responses to warming and increased precipitation and their implications for ecosystem C cycling. *Oecologia* 173, 1125–1142. doi:10.1007/s00442-013-2685-9
- Zhang, W., Parker, K.M., Luo, Y., Wan, S., Wallace, L.L., Hu, S., 2005. Soil microbial responses to experimental warming and clipping in a tallgrass prairie. *Global Change Biology* 11, 266–277. doi:10.1111/j.1365-2486.2005.00902.x
- Zhu, B., Gutknecht, J.L.M., Herman, D.J., Keck, D.C., Firestone, M.K., Cheng, W., 2014. Rhizosphere priming effects on soil carbon and nitrogen mineralization. *Soil Biology and Biochemistry* 76, 183–192. doi:10.1016/j.soilbio.2014.04.033

Effet de la composition de la rotation sur l'abondance, la composition et l'activité des communautés microbiennes sous le blé

Résumé : Les plantes peuvent influencer les communautés microbiennes pendant et après la fin de leur cycle de développement et modifier ainsi les processus de minéralisation et d'immobilisation résultant de l'activité des communautés microbiennes. Ces effets varient en fonction des caractéristiques des rhizodépôts, des résidus et des reliquats minéraux laissés par les plantes. Ainsi le pois produit des résidus en petite quantité comparé au colza ou aux céréales mais avec un C/N plus bas et un C/S plus intermédiaire. Afin de suivre en conditions naturelles l'effet du pois intégré dans différentes rotations culturales sur les communautés microbiennes, nous avons analysé sur deux années consécutives (2012 et 2013) l'abondance et la composition taxonomique (par des techniques de pyroséquençage) des communautés microbiennes totales, l'abondance et l'activité de certains groupes fonctionnels microbiens possédant l'activité protéase ou arylsulfatase et la minéralisation nette de N et S sur des échantillons de sol sous couvert de issus de trois rotations culturales différentes intégrant ou non du pois. Nous n'avons pas observé d'effet de la composition de la rotation sur l'abondance de la communauté microbienne totale, les activités arylsulfatase et protéase, ainsi que sur l'abondance des bactéries responsables de ces activités, sous le blé. En conséquence, la minéralisation d'azote et de soufre n'était pas non plus influencée par la composition de la rotation. Les effets sur la composition et la diversité de la communauté bactérienne sont réduits à des variations d'abondance de quelques taxons, probablement en interaction avec les conditions de l'année.

Mots clés : *Brassica napus*, *Hordeum vulgare*, *Pisum sativum*, rotation, arylsulfatase, protéase, minéralisation, azote, soufre, pyroséquençage

Introduction

Les plantes peuvent modifier les communautés microbiennes au cours de leur développement par la rhizodéposition et/ou le prélèvement de nutriments (Haynes and Francis, 1993 ; Chantigny et al., 1996 ; Haynes et Beare, 1997 ; Vong et al., 2003 ; Paterson et al., 2007 ; Inselsbacher et al., 2010 ; Legay et al., 2014 ; Kuramae et al., 2012 ; Bell et al., 2015). De plus, à l'issue de leur cycle de développement, les plantes annuelles peuvent aussi influencer la disponibilité en composés organiques et nutriments du sol et modifier ainsi les processus de minéralisation et d'immobilisation résultant de l'activité des communautés microbiennes. Cet effet précédent cultural peut être lié à la persistance dans le sol des rhizodépôts plusieurs mois après la culture (Jensen, 1996c), aux reliquats d'éléments minéraux après la récolte (Carrouée et al., 1999 ; Eriksen et al., 2002 ; 2009 ; Sieling et Kage, 2006) ou encore à des modifications de la structure du sol (Edwards, 1992 ; Yang et Kay, 2001 ; Carter et al., 2009). Néanmoins, l'effet précédent cultural est surtout lié à l'enfouissement des résidus racinaires et aériens (Dornbush, 2007). Les résidus peuvent persister plusieurs années dans les sols (Lupwayi et al., 2006), suggérant une capacité de la plante à modifier durablement son environnement (Knops et al., 2002 ; Chapman et al., 2005). Dans les agrosystèmes, en plus de la matière organique, les résidus végétaux incorporés dans le sol sont une source importante de carbone labile et d'éléments minéraux pour la nutrition des plantes. L'effet de la composition chimique des résidus végétaux sur les taux de décomposition a été largement étudiée au cours des dernières décennies (Trinsoutrot et al. 2000 ; Gentile et al. 2011), de même que l'interaction entre les cycles du carbone, de l'azote et du soufre au cours de la décomposition (Mary et al., 1996 ; Jensen et al., 2005 ; Niknahad-Gharmakher et al., 2012). L'incorporation de résidus végétaux dans les sols provoque généralement une augmentation de l'abondance des microorganismes (Sainju et al., 2012 ; McDaniel et al., 2014), positivement corrélée à la quantité de résidus apportés et une augmentation du ratio bactéries/champignons (Marschner et al., 2003). Ces effets sur la biomasse microbienne dépendent aussi de la nature des résidus et de leur qualité biochimique. Wu et al., (1993) ont ainsi montré que le ratio C/S de la biomasse microbienne est réduit de moitié suite à l'incorporation dans le sol de résidus de moutarde. L'incorporation de résidus de culture, du fait d'une teneur en carbone labile plus importante que la matière organique du sol, induit aussi des changements de la structure génétique des communautés microbiennes. Ainsi, les résidus favorisent à court terme les microorganismes copiotrophes et, à plus long terme, les microorganismes oligotrophes (Pascault et al., 2013 ; Chen et al., 2014). A l'échelle de la communauté, les Bacteroidetes (copiotrophes) peuvent être ainsi favorisée en début de dégradation et les Actinobacteria (oligotrophes) en fin de dégradation (Chen et al., 2014). L'augmentation de l'abondance

microbienne, tout comme l'apport de substrats facilement dégradables, stimulent les activités enzymatiques microbiennes impliquées dans la décomposition et la minéralisation de la matière organique (Zhang et al., 2004 ; Melero et al., 2011 ; Ailincal et al., 2008 ; Perucci et al., 1997 ; Ekenler et Tabatabai, 2002 ; Klose et al., 1999 ; Klose et Tabatabai, 2000 ; de Varennes et al., 2007 ; Dodor et Tabatabai, 2003). Ils entraînent ainsi des augmentations des activités protéase (Cayuela et al., 2009) et arylsulfatase (Perucci et al., 1984 ; Perucci et Scarponi, 1984 ; Piutti et al., 2015). Ces modifications peuvent se refléter sur la minéralisation de la matière organique, les résidus provoquant une augmentation de la minéralisation de carbone et, en fonction de leur stœchiométrie, une augmentation de la minéralisation ou de l'immobilisation de l'azote et du soufre (Recous et al., 1996 ; Niknahad-Gharmakher et al., 2012 ; Churka Blum et al., 2013).

L'ensemble des mécanismes contribuent à l'effet précédent des plantes qui est fréquemment observé sur l'abondance microbienne (Carter et al., 2009 ; Sainju et al., 2012), la composition de la communauté microbienne (Yin et al., 2010 ; Zhao et al., 2014 ; Li et al., 2012), les activités enzymatiques (Klose et al., 1999 ; Klose et Tabatabai, 2000 ; Ailincal et al., 2008) et la minéralisation de la matière organique (Carpenter-Boggs et al., 2000 ; Rasmussen et al., 1998).

Les plantes cultivées, du fait de différences en termes de (i) qualité et quantité de leurs rhizodépôts, (ii) de reliquats azotés et soufrés à la récolte, (iii) de quantité et composition de leurs résidus, sont susceptibles d'avoir des arrière-effets différents sur l'abondance, la composition et l'activité des communautés microbiennes des sols sur des durées plus ou moins longues (Lupwayi et al., 2006). A la différence des céréales, le pois, qui correspond à la légumineuse d'intérêt dans notre étude, est capable en fin de cycle de développement de libérer dans le sol des rhizodépôts à faible C/N (ie. 17 ; Wichern et al., 2007a,b) susceptibles de se minéraliser très rapidement (Jensen, 1996c ; Wichern et al., 2007a) et des reliquats d'azote minéral supérieurs de 20 à 40 kg ha⁻¹ à ceux du blé (Carrouée et al., 1999). Le pois produit moins de résidus aériens et racinaires en comparaison des céréales et du colza (10 à 11 T de biomasse aérienne par hectare ; Carrouée et al., 1999) mais avec un C/N, en moyenne de 44 pour les résidus aériens (Soon et Arshad, 2002 ; Lupwayi et al., 2006 ; Kumar et Goh, 2002 ; Gan et al., 2011 ; Engstrom et Linden, 2012 ; Jensen, 1996b, 1997 ; Arcand et al., 2014) et de 20 pour les résidus racinaires (Soon et Arshad, 2002 ; Jensen, 1996b ; Arcand et al., 2014). Ces valeurs de C/N sont inférieures à celles généralement répertoriés chez des céréales et du même ordre de grandeur de celles du colza (Niknahad-Gharmakher et al., 2012 ; Churka-Blum et al., 2013). Les valeurs de C/S des résidus de pois proches de 239 sont intermédiaires du colza et des céréales (Churka-Blum et al., 2013). L'incorporation des résidus de pois induit une augmentation de la biomasse microbienne et de l'activité arylsulfatase (Biederbeck et al., 2005 ; Piotrowska-Długosz et Wilczewski, 2014) mais les effets sur l'activité protéase sont peu clairs, du fait des variations intersaisonnière et interannuelle (Biederbeck et al., 2005 ; Piotrowska-Długosz et Wilczewski, 2014). Seul 15 à 30% de l'azote des résidus

de pois est minéralisé au cours du cycle de développement de la culture suivante (Jensen, 1996a, 1996b ; Evans et al., 2001 ; Lupwayi et al., 2006), ce qui suggère l'existence d'un arrière-effet des résidus du pois sur les communautés microbiennes sur une période supérieure à un an. A notre connaissance aucune étude n'a suivi en conditions naturelles sur plusieurs années cet effet du pois intégré dans différentes rotations culturales sur les communautés microbiennes. Nous avons analysé sur deux années consécutives (2012 et 2013) d'une part l'abondance et la composition taxonomique (par des techniques de pyroséquençage) des communautés microbiennes totales et d'autre part l'abondance et l'activité de certains groupes fonctionnels (ie. possédant l'activité protéase ou arylsulfatase) et la résultante en termes de flux nets de minéralisation de N et S sur des échantillons de sol sous couvert de issus de trois rotations culturales différentes intégrant ou non du pois. Nous faisons l'hypothèse que du fait d'une succession culturale de plantes avec des exigences en nutriments et des compositions biochimiques de résidus contrastées, les trois rotations testées ont des effets différents d'une part sur l'abondance et la composition de la communauté microbienne totale et d'autre part sur l'abondance et l'activité de certains groupes fonctionnels microbiens impliqués dans la minéralisation de l'azote et du soufre de la culture suivante.

Matériels et Méthodes

Expérimentation au champ

L'expérimentation a été mise en place sur la ferme expérimentale de la Bouzule (Champenois, France, 48° 73' N, 6° 31' E) pendant la saison de culture 2008-2009. Le climat de la région est océanique dégradé avec une somme de précipitations moyenne annuelle de 734 mm et une température de l'air moyenne annuelle de 9,9 °C sur la période 2008-2013. Le sol est un sol brun hydromorphe sur argile limoneuse (vertic (clayic) cambisol dans la classification FAO-WRB) contenant en moyenne 62% d'argile, 35% de limon et 3% de sable. L'essai est constitué de 4 blocs (100x72m), perpendiculaires à un gradient de pH (de 7,21 à 8,04) et de teneur en calcaire actif (8 000 à 12 800ppm de CaO). Chaque bloc était divisé en 8 unités expérimentales de 50x18 m.

Deux successions culturales ont été mises en œuvre sur le dispositif expérimental : une succession de 3 ans (colza d'hiver-blé d'hiver-orge d'hiver) et une succession de 5 ans (colza d'hiver-blé d'hiver-orge d'hiver-pois de printemps-blé d'hiver). Dans chaque bloc, 3 unités expérimentales étaient cultivées en rotation de 3 ans (colza d'hiver-blé d'hiver-orge d'hiver) et 5 unités expérimentales en rotation de 5 ans (colza d'hiver-blé d'hiver-orge d'hiver-pois de printemps-blé d'hiver). Sur chacune de ces unités expérimentales une rotation a été commencée à un stade différent, de sorte que toutes les cultures d'une même rotation soient présentes chaque année (Figure 3) (plan d'expérimentation en décalage

de phase ; Yates, 1954). Durant la campagne 2011-2012, les parcelles semées en blé d'hiver ont subi d'importants dégâts de gel et ont dû être retournées puis emblavées en blé de printemps.

Conduite des cultures

Les règles de décision mises en œuvre sur l'essai ont été homogénéisées sur les deux systèmes de cultures. Le travail du sol a consisté en un labour profond réalisé chaque année sur l'ensemble des unités expérimentales. Les semis ont été réalisés avec le même outil (semoir combiné à une herse rotative) quelle que soit la culture implantée. Le raisonnement de la fertilisation azotée s'est fait selon la méthode du bilan pour les céréales et selon la réglette azote pour le colza. Les parcelles ont été fertilisées en août 2009 avec du fumier de bovins, à raison de 30T/ha, soit 170 kgN/ha, 111 kgP/ha and 120 kgK/ha. Les années suivantes, la fertilisation N et S a été réalisée avec du nitrate d'ammonium, de l'urée et du sulfonitrate d'ammonium. La fertilisation annuelle était en moyenne de 174 kgN/ha et 60 kgS/ha pour le colza, de 206 kgN/ha pour l'orge et de 183 kgN/ha pour le blé. Le pois n'a reçu ni fertilisation N ni fertilisation S. Concernant la protection phytosanitaire, les interventions ont été déclenchées de façon raisonnée en fonction des seuils du Bulletin de Santé du Végétal pour les maladies et les ravageurs. Sachant que le travail visait aussi au suivi des évolutions de communautés d'adventices, la pression herbicide a été réduite. Ainsi sur les 5 ans d'expérimentation, l'Indice de Fréquence de Traitement (IFT) Herbicides est compris entre 20 et 70% des références régionales, à l'exception du pois, où l'IFT Herbicides a été maintenu au niveau des références régionales en raison de la faible compétitivité de cette culture en début de cycle. Après récolte, les pailles de céréales ont été exportées alors que les pailles de colza et de pois ont été enfouies.

Prélèvement du sol

Des échantillons de sol (profondeur 0-10cm) ont été prélevés en juillet 2012 et juillet 2013 dans l'ensemble des parcelles cultivées en blé (stade phénologique : maturation en 2012 et floraison en 2013), à raison d'un échantillon par unité expérimentale, réalisés dans la même zone repérée grâce à ses coordonnées GPS. Les échantillons ont été prélevés sous couvert de blé (indiquée en gras ci-après) en 2012 et 2013 sous chacune des séquences de culture suivantes, se différenciant par le nombre d'années suivant la culture de pois de printemps, Blé-Orge-Colza-**Blé** (BOCB), Blé-Orge-Pois-**Blé** (BOPB) et Pois-Blé-Colza-**Blé** (PBCB). Les échantillons de sol prélevés ont été tamisés à 5 mm puis conservés à 4°C en attendant les mesures d'activités enzymatiques et d'abondance de bactéries cultivables (réalisées dans la semaine suivant le prélèvement). Pour chaque échantillon prélevé, un aliquote a été congelé à -20°C pour les mesures d'abondance de gènes microbiens et le pyroséquençage (Tableau 3).

Activités enzymatiques microbiennes

L'activité potentielle arylsulfatase a été mesurée d'après le protocole de Tabatabai et Bremner (1970). Un gramme de sol a été incubé pendant 1h à 37°C avec 1mL de p-nitro-phenyl sulfate (Sigma-Aldrich, Saint-Louis, Etats-Unis) à 25mM (substrat de l'enzyme), 0,25mL de toluène et 4mL de tampon acétate de sodium 0,5M, pH 5,8. L'ajout de toluène permet d'empêcher la synthèse de nouvelles enzymes et de rendre accessible au substrat les enzymes intracellulaires en perméabilisant les membranes cellulaires (Frankenberger et Johanson, 1986). La réaction a été stoppée par l'ajout de 1mL de CaCl_2 0,5M et de 4mL de NaOH 0,5M. La solution a été filtrée sur papier filtre 2V. La quantité de p-nitro-phénol libérée pendant l'incubation a été mesurée par absorbance à 400nm avec un spectrophotomètre Cary 300 Scan (Varian, Palo Alto, Etats-Unis) et le logiciel Cary Win UV 3. Les blancs réactionnels ont été réalisés en incubant chaque sol dans les mêmes conditions que les échantillons, à l'exception du substrat de l'enzyme, ajouté après l'arrêt de la réaction. Une gamme étalon a été réalisée à l'aide de p-nitro-phénol, pour des concentrations allant de 9 à 15 $\mu\text{g mL}^{-1}$. L'activité potentielle arylsulfatase a été exprimée en $\mu\text{g p-nitro-phénol h}^{-1} \text{g sol sec}^{-1}$.

L'activité potentielle protéase a été mesurée d'après le protocole de Ladd et Butler (1972). Un gramme de sol frais a été incubé pendant 4h à 45°C avec 2,5mL de tampon Tris-HCl 0,1M, pH 8 et 2,5mL d'une solution de caséinate de sodium (Sigma-Aldrich, Saint-Louis, Etats-Unis) à 2% (substrat de l'enzyme). Cinq millilitres d'acide trichloroacétique à 10% ont été ajoutés à la fin de l'incubation pour stopper la réaction. Après centrifugation à 16 000g pendant 2min, 0,5mL de surnageant ont été mélangés avec 0,75mL de carbonate de sodium à 1,4M et 0,25mL de réactif de Folin-Ciocalteu à 16,5%. Après 5 min d'incubation, la quantité de tyrosine libérée pendant l'incubation a été déterminée par colorimétrie à 680nm avec un spectrophotomètre Cary® 300 (Varian, Palo Alto, Etats-Unis) et le logiciel Cary Win UV 3. Les blancs réactionnels ont été réalisés en incubant chaque sol dans les mêmes conditions que les échantillons, à l'exception du substrat de l'enzyme, ajouté après l'arrêt de la réaction. La gamme étalon était composée de tyrosine de 100 à 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. L'activité potentielle protéase a été exprimée en $\mu\text{g Tyr h}^{-1} \text{g sol sec}^{-1}$.

Cinétiques de minéralisation de l'azote et du soufre

Les cinétiques de minéralisation ont été réalisées sur 10g équivalent sec de sol maintenu à 100% de la capacité au champ et à 20°C à l'obscurité. Le sol a été placé dans des conditions non limitantes en azote et en soufre par ajout de 70 $\mu\text{g N-KNO}_3 \text{ g}^{-1} \text{ sol sec}$ et de 20 $\mu\text{g S-Na}_2\text{SO}_4 \text{ g}^{-1} \text{ sol sec}$ (Recous et al., 1995). A 0, 3, 7, 14 et 28 jours après mise en incubation, les nitrates et les sulfates ont été extraits du sol par agitation orbitale de 5g de sol dans 25mL de KH_2PO_4 16mM pendant 30min (Walker et Doornenbal, 1972). Le mélange sol- KH_2PO_4 a ensuite été filtré une première fois sur papier filtre 2V

(Whatman, Maidstone, Royaume-Uni) et une deuxième fois sur filtre Minisart® 0,45µm (Sartorius AG, Göttingen, Allemagne). Les extraits KH_2PO_4 ont été congelés à -20°C en attendant le dosage de la teneur en nitrates et sulfates par chromatographie ionique Dionex, réalisée au Laboratoire Sol et Environnement (Vandoeuvre-lès-Nancy, France).

Abondance des bactéries cultivables

Les abondances de bactéries cultivables ont été déterminées à partir d'une suspension de 10g de sol frais réalisée dans 100mL de tampon PBS stérile (NaCl 8 g L^{-1} , Na_2HPO_4 1,44 g L^{-1} , KH_2PO_4 0,24 g L^{-1} , pH 7,2) par agitation à 120rpm pendant 30min.

Les bactéries cultivables totales ont été dénombrées par étalement de la suspension de sol diluée de 1000 à 10 000 fois en triplicata sur un milieu de culture solide TSA au 10^{ème} (trypticase soy agar 4g L^{-1} , agar 13,5g L^{-1} , pH 7,3). Les colonies ont été comptées après 10 jours d'incubation à 28°C . L'abondance de bactéries a été exprimée en Unités Formant Colonies (UFC) par g^{-1} sol sec.

Les bactéries cultivables possédant l'activité arylsulfatase ont été dénombrées par étalement de la suspension de sol diluée de 1000 fois en triplicata sur un milieu de culture solide M9 supplémenté en X-sulf (Na_2HPO_4 , 7H₂O 12.8 g L^{-1} , KH_2PO_4 3 g L^{-1} , NaCl 0.5 g L^{-1} , NH_4Cl 1 g L^{-1} , glucose 4 g L^{-1} , MgCl_2 , 6H₂O 0.4 g L^{-1} , CaCl_2 , 2H₂O 1.47×10^{-2} g L^{-1} , biotine 5 mg L^{-1} , thiamine 5 mg L^{-1} , cycloheximide 100 mg L^{-1} , agar 15 g L^{-1} , et 0.1 g L^{-1} de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl sulfate potassium salt (X-sulf, Sigma, France), pH 7) (Cregut et al., 2009). Le X-sulf est un substrat chromogène qui se colore en bleu lorsque la liaison ester sulfate est hydrolysée (Wyss, 1989). Les colonies bleues (exprimant l'activité arylsulfatase) ont été comptées après 21 jours d'incubation à 28°C . L'abondance de bactéries a été exprimée en Unités Formant Colonies (UFC) par g^{-1} sol sec.

Les bactéries cultivables possédant l'activité protéase ont été dénombrées par étalement de la suspension de sol diluée de 1000 à 10 000 fois en triplicata sur un milieu de culture solide caséinate de calcium-agar 30,7g L^{-1} , pH 7. Les colonies entourées d'un halo clair (exprimant l'activité protéase extracellulaire) ont été comptées après 10 jours d'incubation à 28°C . L'abondance de bactéries a été exprimée en Unités Formant Colonies (UFC) par g^{-1} sol sec.

Extractions d'ADN de sol et PCR quantitative

L'abondance des communautés bactériennes et fongiques totales ainsi que des communautés bactériennes possédant des gènes codant des métalloprotéases alcalines (gènes *apr*) et des subtilisines (gènes *sub*) a été évaluée par PCR quantitative en temps réel ciblant, respectivement, les gènes ADNr 16S, ADNr 18S, *apr* et *sub*.

L'ADN du sol a été extrait à partir de 0,5 g de sol avec le kit Fast DNA® SPIN Kit for Soil (MP Biomedical, Santa Anna, USA), selon les recommandations du fournisseur.

La quantification de l'ADNr 16S a été réalisée grâce aux amorces 341F et 534R (Lopez-Gutiérrez et al., 2004) dans un volume réactionnel de 10 µL, contenant 10 ng d'ADN, du Power SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, USA) 1x, 1 µM de chaque amorce et 250 ng de T4Gene 32 (MP Biomedicals, Strasbourg, France). Les conditions de PCR étaient : 95 °C pour 10 min, 35 cycles de 15 s à 95 °C, 30 s à 60 °C, 30 s à 72 °C (Lopez-Gutiérrez et al., 2004). La lecture de la fluorescence a été réalisée à 80 °C. La quantification de l'ADNr 18S a été réalisée grâce aux amorces FR1 et FF390 (Prévost-Bouré et al., 2011) dans un volume réactionnel de 20 µL, contenant 10 ng d'ADN, du Power SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, USA) 1x, 1,25 µM de chaque amorce et 200 ng de T4Gene 32 (MP Biomedicals, Strasbourg, France). Les conditions de PCR étaient : 95 °C pour 10 min, 40 cycles de 15 s à 95 °C, 30 s à 50 °C, 60 s à 70 °C (Prévost-Bouré et al., 2011). La lecture de la fluorescence a été réalisée à 75°C. Pour les gènes *apr* et *sub*, le mélange réactionnel, d'un volume final de 20 µL, contenait 10 ng d'ADN, du Power SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, USA) 1x, 1,75 µM de chaque amorce (respectivement, *apr* I et *apr* II ou *sub* I et *sub* II ; Bach et al., 2002) et 150 ng de T4Gene 32 (MP Biomedicals, Strasbourg, France). Les conditions de PCR étaient : 95 °C pour 10 min, 40 cycles de 20 s à 95 °C, 30 s à 53 °C, 60 s à 72 °C (Gschwendtner et al., 2010). La lecture de la fluorescence a été réalisée à 78 °C pour le gène *apr* et à 80 °C pour le gène *sub*.

Chaque échantillon a été amplifié en triplicata sur différentes plaques PCR. Les PCR ont été réalisées dans un thermocycleur StepOnePlus™ (Applied Biosystems, Foster City, USA). Les courbes étalons ont été construite à partir de 5 dilutions (10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 et 10^7 copies par réaction PCR) de plasmide pCR®8/GW/TOPO® (Invitrogen, Carlsbad, Etats-Unis) linéarisés avec l'enzyme Xba I et contenant une séquence standard de chacun des gènes cibles. Les séquences standard étaient un gène d'ARNr 16S de *Rhodococcus sp*, un gène d'ARNr 18S d'une souche de *Fusarium sp* isolée à partir de sol agricole, une séquence *sub* clonée à partir d'ADN extrait de sol agricole et une séquence *apr* de *Pseudomonas aeruginosa* PAO1.

Le contrôle du cycle de PCR, la collecte des données et les calculs de concentration ont réalisés avec le logiciel StepOne™ Software v.2.1. La spécificité de l'amplification a été contrôlée par analyse des courbes de fusion et par électrophorèse des produits de PCR sur gel d'agarose 1,5% (m/v).

Pyroséquençage de l'ADNr 16S et traitement des données

Le séquençage des régions V3 et V4 de l'ADNr 16S à partir des échantillons d'ADN extraits de sol a été réalisé par Genoscreen (Lille, France) sur un séquenceur GS-FLX 454 (Roche Diagnostics, Meylan,

France), basé sur la chimie du titane. A l'issue du séquençage les séquences obtenues ont été pré-traitées par Genoscreen (Lille, France) suivant leur stratégie MetaBiote®. Les séquences inférieures à 200 ou supérieures à 600 paires de bases, présentant des bases ambiguës, un code de qualité moyen inférieur à 25, des homopolymères de plus de 6 bases ou des erreurs dans la séquence des amorces ou des SIMs® ont été éliminées. Vingt et un pourcent des séquences ont été éliminées à cette étape. Les séquences ont ensuite été traitées séparément pour chaque année conformément à la procédure standard de Schloss et al. (2011) avec le logiciel Mothur v.1.35.1 (Schloss et al., 2009). Les séquences ont été alignées par rapport à la base de données SILVA v.102 (Pruesse et al., 2007) avec un seuil de confiance de 50%. Les séquences potentiellement chimériques ont été éliminées grâce au programme UCHIME (Edgar et al., 2011) implémenté dans Mothur v.1.35.1 en utilisant les séquences comme leur propre référence. Un total de 43 166 séquences en 2012 et de 57 560 séquences en 2013, ayant une longueur médiane de 465 paires de bases, ont été conservées après ces étapes de traitement. Les séquences ont été regroupées en Operational Taxonomic Unit (OTU) au seuil de 97% d'homologie en utilisant l'algorithme « average neighbor », et la séquence la plus abondante a été choisie comme la séquence représentative. En 2012, un total de 13 365 OTU différents a été observé. En 2013, un total de 20 757 OTU différents a été observé. Les séquences ont reçu une affiliation taxonomique par comparaison avec la base de données Ribosomal Database Project v.9 (Cole et al., 2014) en utilisant la méthode de Wang et al. (2007) avec un seuil de confiance de 80%. Quarante-neuf pourcent des séquences de 2012 et 42% des séquences de 2013 ont été affiliées au niveau du genre. Quatre-vingt-douze pourcent des séquences de 2012 et 93% des séquences de 2013 ont été affiliées au niveau du phylum. L'abondance relative des groupes phylogénétiques a été exprimée comme le nombre de séquences affiliées à ce groupe divisé par le nombre de séquences totales de l'échantillon. Un arbre phylogénétique a été généré pour chaque année à partir de l'ensemble des séquences de tous les échantillons en utilisant l'algorithme « relaxed neighbor joining » (Evans et al., 2006).

Analyses statistiques

La qualité de l'échantillonnage des communautés bactériennes a été évaluée grâce à l'indice de couverture de Good (Good, 1953) et aux courbe de raréfaction (Sanders, 1968). La richesse en OTU a été évaluée grâce à l'indice Chao1 (Chao, 1984) et à l'indice ACE (Chao et Yang, 1993). L'équitabilité de la distribution des OTU a été évaluée grâce à l'équitabilité de Shannon (Lloyd et Ghelardi, 1964). La diversité des OTU a été évaluée grâce à l'indice de Shannon non-paramétrique (Chao et Shen, 2003) et à l'indice de Simpson (Simpson, 1949). La diversité phylogénétique (PD) bactérienne a été calculée d'après Faith (1992), comme la longueur totale des branches terminales de l'arbre phylogénétique.

La structure et la composition taxonomique a été comparée entre les trois successions de culture pour chaque année en construisant une matrice de distance de Bray-Curtis (structure) et une matrice de distance de Jaccard (composition) entre les échantillons à partir des OTU.

La structure et la composition phylogénétique des communautés a été comparée entre les trois successions de culture pour chaque année en construisant une matrice de distance entre les échantillons à partir des arbres phylogénétiques en utilisant la méthode UniFrac (Lozupone et Knight, 2005), pondérée (structure) et non-pondérée (composition) par l'abondance des séquences. La matrice de distance résultante a été représentée grâce à un positionnement multidimensionnel non-métrique (NMDS).

L'effet des rotations sur la composition et la structure taxonomique et phylogénétique a été testé par analyse de la similarité (ANOSIM) sur les matrices de distance grâce à Mothur v.1.35.1. Pour s'abstraire des différences de pression d'échantillonnage, les indices de couverture, de diversité taxonomique et de diversité phylogénétique et les matrices de distance ont été calculés comme la moyenne de 1000 sous-échantillons de 5339 séquences (2012) ou de 7464 séquences (2013) chacun grâce au logiciel Mothur v.1.35.1 (Schloss et al., 2009).

Les différences d'abondance relative des taxons bactériens entre rotations ont été calculées séparément pour chaque année sur un sous-échantillon de 5339 séquences (2012) ou de 7464 séquences (2013) grâce au programme Metastats (White et al., 2009) implémenté dans Mothur v.1.35.1.

L'effet des successions de culture sur les indices de diversité bactérienne, les abondances de gènes, les activités enzymatiques et les cinétiques de minéralisation a été analysé par un test de Friedman sur les données appariées par année et par bloc, avec la succession de cultures comme facteur. La comparaison multiple des moyennes a été réalisée grâce à un test post-hoc de Nemenyi. Les tests de Friedman et de Nemenyi ont été réalisés avec R 3.0.0 (R Development Core Team, 2014), en utilisant les packages Rcmdr (Fox, 2005) et PMCMR v.1.1 (Pohlert, 2014).

Résultats

Effet de la rotation sur les abondances microbiennes, les activités enzymatiques et la minéralisation nette de l'azote et du soufre dans sol prélevé sous couvert de blé

Les abondances microbiennes, totales ou fonctionnelles, les activités arylsulfatase et protéase et la minéralisation nette de l'azote et du soufre ont été mesurés sous un couvert de blé dans trois

Tableau 1 Variables microbiennes sous le blé en fonction de la rotation (moyenne de 8 réplicats $\pm$ erreur type). Composition des rotations (le sol a été prélevé sous le blé indiqué en gras) : BOCB, rotation Blé-Orge-Colza-**Blé** ; BOPB, rotation Blé-Orge-Pois-**Blé**, PBCB, rotation Pois-Blé-Colza-**Blé**. n.s.: pas de différence significative entre rotations

	BOCB	BOPB	PBCB	χ^2
Bactéries cultivables totales (UFC g ⁻¹ sol sec)	1.75E+08 $\pm$ 7.27E+07	1.54E+08 $\pm$ 7.90E+07	1.54E+08 $\pm$ 7.16E+07	4.00n.s.
Bactéries cultivables protéolytiques (UFC g ⁻¹ sol sec)	2.35E+07 $\pm$ 1.24E+07	1.91E+07 $\pm$ 1.16E+07	2.53E+07 $\pm$ 1.28E+07	3.00n.s.
Bactéries cultivables arylsulfatase (UFC g ⁻¹ sol sec)	1.10E+07 $\pm$ 3.86E+06	8.68E+06 $\pm$ 2.67E+06	1.16E+07 $\pm$ 4.37E+06	2.25n.s.
ADNr 16S (copies g ⁻¹ sol sec)	1.39E+08 $\pm$ 1.46E+07	1.73E+08 $\pm$ 2.85E+07	2.18E+08 $\pm$ 2.43E+07	3.25n.s.
ADNr 18S (copies g ⁻¹ sol sec)	8.90E+06 $\pm$ 1.80E+06	1.39E+07 $\pm$ 3.85E+06	1.45E+07 $\pm$ 2.81E+06	3.25n.s.
<i>apr</i> (copies g ⁻¹ sol sec)	2.16E+07 $\pm$ 1.04E+07	1.83E+07 $\pm$ 6.33E+06	3.44E+07 $\pm$ 1.21E+07	0.75n.s.
ADNr 16S/ ADNr 18S	23.0 $\pm$ 5.7	18.8 $\pm$ 5.6	17.5 $\pm$ 2.1	4.00n.s.
<i>apr</i> / ADNr 16S	0.145 $\pm$ 0.052	0.134 $\pm$ 0.045	0.184 $\pm$ 0.066	1.75n.s.
Activité protéase (μ gTyr h ⁻¹ g ⁻¹ sol sec)	128 $\pm$ 25	146 $\pm$ 26	112 $\pm$ 22	2.00n.s.
Activité arylsulfatase (μ gPN h ⁻¹ g ⁻¹ sol sec)	198 $\pm$ 27	176 $\pm$ 17	233 $\pm$ 31	3.25n.s.
Minéralisation nette de N (mgS kg ⁻¹ j ⁻¹)	1.29 $\pm$ 0.25	1.37 $\pm$ 0.38	1.61 $\pm$ 0.31	2.25n.s.
Minéralisation nette de S (mgS kg ⁻¹ j ⁻¹)	0.541 $\pm$ 0.067	0.478 $\pm$ 0.089	0.559 $\pm$ 0.081	0.25n.s.

rotations différentes (rotation Blé-Orge-Colza-**Blé** (BOCB), rotation Blé-Orge-Pois-**Blé** (BOPB) et rotation Pois-Blé-Colza-**Blé** (PBCB)). Les abondances microbiennes totales, mesurées par les abondances de gènes (ADNr 16S et ADNr 18S) ou par des méthodes de culture (bactéries cultivables) sur les échantillons de sol sous couvert de blé ne sont pas significativement différentes au seuil $p < 0.05$ entre les trois rotations (Tableau 1). Toutes rotations confondues, le nombre de copies de gènes exprimé par gramme de sol sec est de $1,24\text{E}+07 \pm 1,71\text{E}+06$ et de $1,77\text{E}+08 \pm 1,45\text{E}+07$ respectivement pour l'ADNr 18S et l'ADNr 16S.

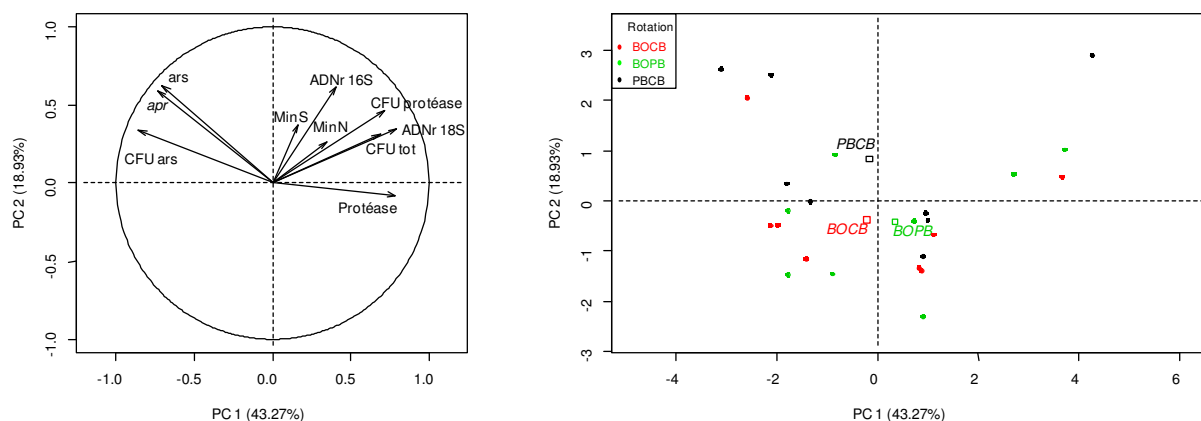


Figure 1 Analyse en composante principale des variables microbiennes (diagrammes des variables et des individus). Les deux premiers axes sont représentés. Les individus sont coloriés en fonction de la rotation. Les carrés (■) représentent le centroïde de la rotation. CFU tot : abondance totale de bactéries cultivables ; CFU protéase : abondance de bactéries cultivables protéolytiques ; CFU ars : abondance de bactéries cultivables présentant l'activité arylsulfatase ; protéase : activité protéase ; ars : activité arylsulfatase ; MinN : minéralisation nette de N ; MinS : minéralisation nette de S ; BOCB : rotation Blé-Orge-Colza-Blé ; BOPB : rotation Blé-Orge-Pois-Blé ; PBCB : rotation Pois-Blé-Colza-Blé

L'abondance des bactéries cultivables est en moyenne de $1,61\text{E}+08 \pm 4,12\text{E}+07$ UFC gramme⁻¹ sol sec. Aucun effet significatif du type de rotation n'est mis en évidence au niveau de la taille des communautés microbiennes fonctionnelles impliquées dans la minéralisation de l'azote et du soufre (i.e. possédant respectivement les activités protéase et arylsulfatase) (Tableau 1). Toutes rotations confondues, l'abondance des gènes *apr* est de $2,47\text{E}+07 \pm 5,67\text{E}+06$ copies gramme⁻¹ sol sec. Les densités des bactéries cultivables exprimées en UFC gramme⁻¹ sol sec sont de $2,26\text{E}+07 \pm 6,80\text{E}+06$ et $1,04\text{E}+07 \pm 2,06\text{E}+06$ respectivement pour les bactéries possédant l'activité protéase et celles possédant l'activité arylsulfatase.

Les activités protéase et arylsulfatase ne sont pas significativement différentes au seuil $p < 0.05$ en fonction de la rotation (Tableau 1). Toutes rotations confondues, l'activité protéase est de 129 ± 13 $\mu\text{gTyr h}^{-1}$ gramme⁻¹ sol sec, l'activité arylsulfatase est de 203 ± 15 $\mu\text{gPN h}^{-1}$ gramme⁻¹ sol sec.

De même que pour les abondances de bactéries impliquées dans la minéralisation de l'azote et du soufre et que pour l'activité protéase et arylsulfatase, la minéralisation nette de N et S n'est pas significativement influencée par la rotation (Tableau 1). Toutes rotations confondues, la minéralisation nette de l'azote est de $1,43 \pm 0,18$ mgN kg⁻¹ jour⁻¹ sol sec et la minéralisation nette du soufre est de $0,53 \pm 0,04$ mgS jour⁻¹ kg⁻¹ sol sec. La minéralisation nette de l'azote et du soufre n'est significativement corrélée à aucune des variables d'abondance ou d'activité microbiennes mesurées.

Tableau 2 Indices de diversité alpha de la communauté bactérienne totale en fonction de la rotation (moyenne $\pm$ erreur type), en 2012 et 2013. nOTU : nombre d'OTU observés, ShannonNP : indice de Shannon non paramétrique, PD : indice de diversité phylogénétique. Rotation BOCB : Blé-Orge-Colza-Blé, rotation BOPB : Blé-Orge-Pois-Blé, rotation PBCB : Pois-Blé-Colza-Blé. Les moyennes suivies par des lettres différentes sont significativement différentes entre les rotations au sein d'une même année. n.s. : différence non significative, * $p < 0,05$

	Nombre de séquences	Sous-échantillon	Indice de Good	nOTU	Chao1	ACE	Simpson	Shannon NP	Équitabilité de Shannon	PD
2012										
BOCB	6914 $\pm$ 1139	5339	0.83 $\pm$ 0.01	2037 $\pm$ 334	4289 $\pm$ 1021a	6431 $\pm$ 1700a	0.0033 $\pm$ 0.0007	6.92 $\pm$ 0.12	0.88 $\pm$ 0.00	107 $\pm$ 17
BOPB	7405 $\pm$ 1002	5339	0.83 $\pm$ 0.01	2060 $\pm$ 277	4581 $\pm$ 1004b	6766 $\pm$ 1791b	0.0035 $\pm$ 0.0005	6.85 $\pm$ 0.09	0.87 $\pm$ 0.00	109 $\pm$ 14
PBCB	7991 $\pm$ 1056	5339	0.83 $\pm$ 0.01	2218 $\pm$ 218	5145 $\pm$ 1016b	7865 $\pm$ 1860b	0.0030 $\pm$ 0.0003	6.93 $\pm$ 0.02	0.87 $\pm$ 0.01	115 $\pm$ 10
χ^2	3.5n.s.		1.5n.s.	1.5n.s.	6*	6.5*	0n.s.	1.5n.s.	2n.s.	1.5n.s.
2013										
BOCB	8759 $\pm$ 263	7449	0.77 $\pm$ 0.01	2934 $\pm$ 141	8748 $\pm$ 565	15063 $\pm$ 1129b	0.0030 0.0004	7.20 0.09	0.87 0.01	176 8
BOPB	8673 $\pm$ 475	7449	0.78 $\pm$ 0.01	2760 $\pm$ 72	7580 $\pm$ 340	12626 $\pm$ 784a	0.0030 0.0004	7.14 0.08	0.87 0.01	164 4
PBCB	8320 $\pm$ 310	7449	0.76 $\pm$ 0.01	2789 $\pm$ 91	8285 $\pm$ 410	14896 $\pm$ 988b	0.0031 0.0004	7.16 0.08	0.87 0.01	165 4
χ^2	1.5n.s.		2n.s.	2n.s.	3.5n.s.	6*	1.5n.s.	2n.s.	1.5n.s.	2n.s.

Effets de la rotation sur la structure et la diversité de la communauté bactérienne totale du sol prélevé sous couvert de blé

Pour calculer les indicateurs de diversité, nous avons considéré le plus petit dénominateur commun aux échantillons, soit 5339 séquences pour 2012 et 7449 séquences pour 2013 (choisies aléatoirement par Mothur). En raison de la taille des jeux de données, nous avons dû traiter séparément les données de chaque année pour des raisons de puissance de calcul disponible. Les échantillons prélevés sous blé dans les trois rotations différentes présentent des richesses spécifiques similaires (i.e. nombre d'OTU observé) (Tableau 2). Les courbes de raréfaction sont loin d'atteindre l'asymptote, pour la plupart des échantillons, indiquant que la richesse observée est sous estimée, et ne permettent pas d'observer de différences de richesse spécifique entre les rotations (Figure 2). Néanmoins, les estimateurs de richesse Chao1 et ACE sont significativement supérieurs dans les rotations PBCB et BOPB par rapport à la rotation à BOCB en 2012 mais inférieurs dans la rotation BOPB par rapport aux deux autres rotations en 2013. Les indicateurs d'équitabilité, de diversité spécifique (Shannon non-paramétrique et Simpson) et de diversité phylogénétique ne sont pas significativement différents entre les blés issus des trois rotations. La structure des communautés bactériennes (nombre et abondance relative des différents OTU) a été comparée entre échantillons par le calcul d'une matrice de dissimilarité de Bray-Curtis et d'une matrice de Jaccard. Les matrices obtenues (comparaison deux à deux de tous les échantillons) ont servi de base

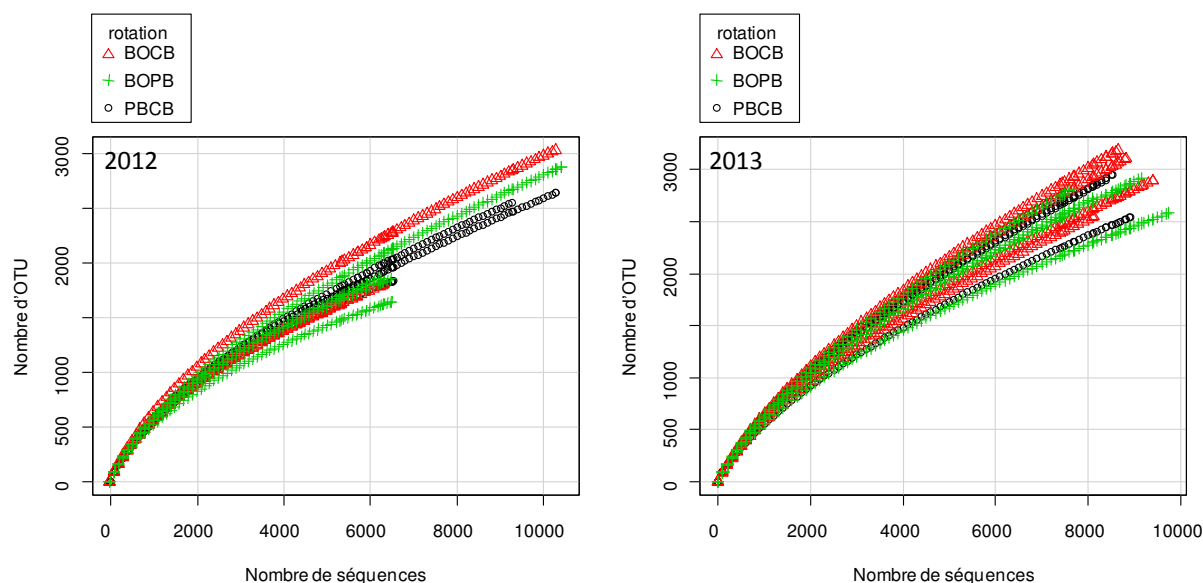


Figure 2 Courbes de raréfaction des OTU 97% en fonction de la rotation en 2012 et 2013. Composition des rotations (le sol a été prélevé sous le blé indiqué en gras) : BOCB, rotation Blé-Orge-Colza-**Blé** ; BOPB, rotation Blé-Orge-Pois-**Blé**, PBCB, rotation Pois-Blé-Colza-**Blé**.

pour la représentation graphique sous forme de graphes NMDS (Figure 4) afin de comparer les similitudes de structure. Aucune différence n'a pu être mise en évidence par ANOSIM entre les trois rotations, quel que soit l'indice utilisé et quelle que soit l'année ($p > 0.05$).

Effet de la rotation sur la composition phylogénétique de la communauté bactérienne totale du sol prélevé sous couvert de blé

Les données issues du pyroséquençage ont permis d'identifier 19 et 21 phyla bactériens dans les échantillons de sol prélevés respectivement en 2012 et 2013. Les phyla dominants sont, en 2012 comme en 2013, les Proteobacteria (49% des séquences en 2012 et 45% des séquences en 2013), les Actinobacteria (19% en 2012, 28% en 2013), les Bacteroidetes (8,3% en 2012, 8,5% en 2013) et les Gemmatimonadetes (7,5% en 2012, 4,13% en 2013) (Figure 3). Quatre classes de Proteobacteria ont été identifiées, les Alphaproteobacteria (13% des séquences en 2012, 16% en 2013), les Betaproteobacteria (6,1% en 2012, 5,2% en 2013), les Gammaproteobacteria (8,5% en 2012, 10% en 2013) et les Deltaproteobacteria (20% en 2012, 12% en 2013). Aux rangs taxonomiques inférieurs, 51 classes, 83 ordres, 142 familles et 328 genres ont été identifiés en 2012 et 51 classes, 86 ordres, 148 familles et 349 genres en 2013. Toutes rotations confondues, les genres les plus abondants en 2012 étaient les *Gemmatimonas* (7,54%), les *Gaiella* (6,70%), les *Sphingomonas* (2,77%), et les *Kofleria* (1,20%). Les genres les plus abondantes en 2013 étaient les *Gaiella* (8,93%), les *Gemmatimonas* (4,13%), les *Sphingomonas* (3,49%) et les *Arenimonas* (1,27%).

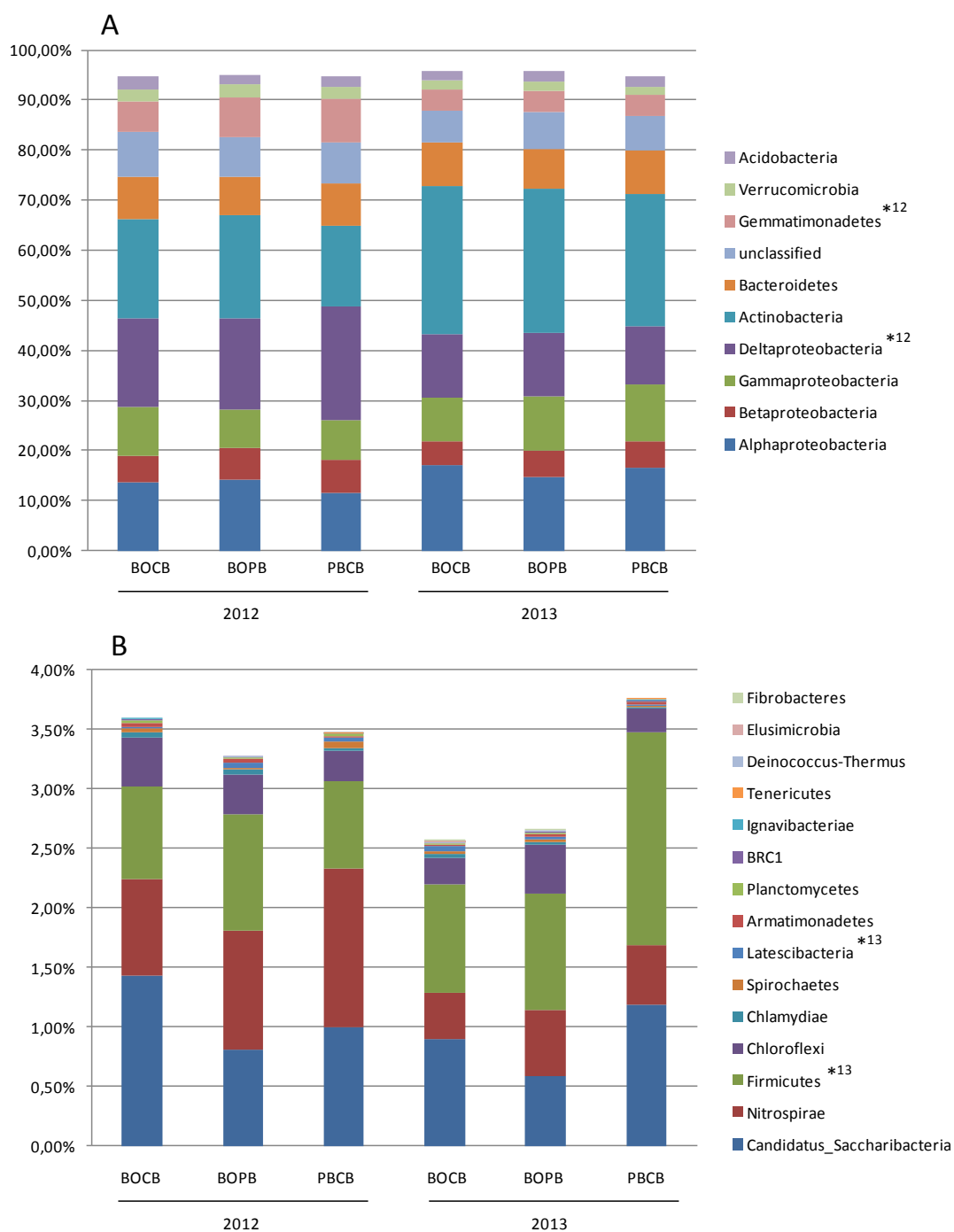


Figure 3 Abondance relative des phyla et des classes de protéobactéries, abondants (>1% de la communauté) (A) et rares (<1% de la communauté) (B), en fonction de la rotation en 2012 et 2013. Composition des rotations (le sol a été prélevé sous le blé indiqué en gras) : BOCB, rotation Blé-Orge-Colza-**Blé** ; BOPB, rotation Blé-Orge-Pois-**Blé**, PBCB, rotation Pois-Blé-Colza-**Blé**. *¹² Abondance significativement différente entre rotations en 2012, *¹³ Abondance significativement différente entre rotations en 2013

Néanmoins, plusieurs taxons présentent des variations d'abondance relative en fonction de la rotation. Ainsi au niveau taxonomique du phylum, l'abondance des Deltaproteobacteria et des Gemmatimonadetes sous couvert de blé est significativement différente selon la rotation en 2012 mais pas en 2013. L'abondance des Deltaproteobacteria suit le gradient suivant : rotation PBCB ($22,8 \pm 1,09\%$) > rotation BOPB ($18,4 \pm 1,63\%$) > rotation BOCB ($17,6 \pm 0,7\%$). L'abondance des Gemmatimonadetes est supérieure sous couvert de blé dans des rotations incluant du pois ($8,13 \pm 1,96\%$ pour BOPB et $8,57 \pm 0,56\%$ pour PBCB) que dans la rotation BOCB ($5,90 \pm 0,72\%$). Parmi les phyla les plus rares (représentant moins de 1% de la communauté totale), l'abondance des Firmicutes et des Latescibacteria varie en fonction de la rotation en 2013 mais pas en 2012. Les Firmicutes sont plus

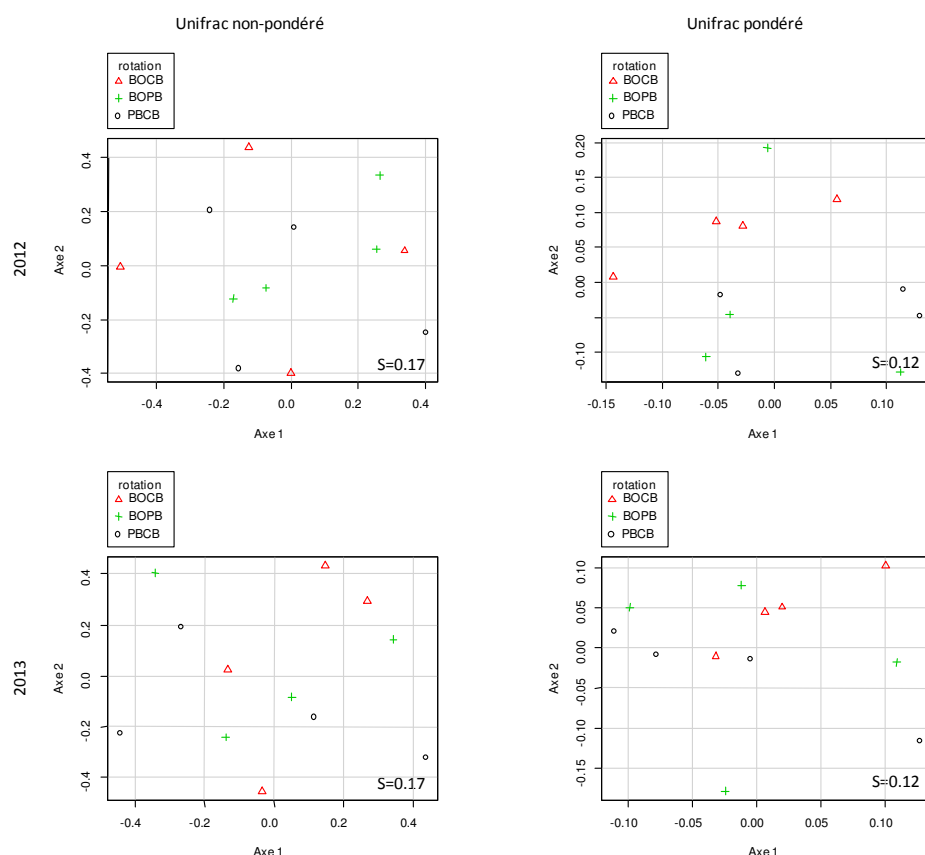


Figure 4 Positionnement multidimensionnel non-métrique (NMDS) des communautés microbiennes en 2012 et 2013, basé sur la matrice de distance Unifrac, non-pondérée (composition phylogénétique ; A et C) ou pondérée par l'abondance (structure phylogénétique ; B et D). Composition des rotations (le sol a été prélevé sous le blé indiqué en gras) : BOCB, rotation Blé-Orge-Colza-**Blé** ; BOPB, rotation Blé-Orge-Pois-**Blé**, PBCB, rotation Pois-Blé-Colza-**Blé**. L'analyse par ANOSIM n'a montré différence significative entre rotations au seuil $p < 0.05$

abondants sous la rotation PBCB ($1,79 \pm 0,22\%$) que dans les rotations BOCB ($0,975 \pm 0,188\%$) et BOPB ($0,911 \pm 0,075\%$). Les Latescibacteria sont plus abondantes dans la rotation BOPB ($0,039 \pm 0,011\%$), moins abondantes dans la rotation PBCB ($0,008 \pm 0,008\%$) et intermédiaires dans la rotation BOCB ($0,022 \pm 0,007\%$).

Au niveau du genre, 22 genres en 2012 et 13 genres en 2013 ont des abondances relatives qui varient en fonction de la rotation (Tableau 3). A l'exception de *Gemmatimonas*, *Bradyrhizobium* et *Pseudomonas*, ces genres sont généralement peu abondants (i.e. abondances relatives inférieures à 1%). Seules les abondances relatives des genres *Methylophilus*, *Nannocystis*, *Panacagrimonas* et *Pseudomonas* varient en fonction de la rotation à la fois en 2012 et en 2013. Les *Nannocystis* et les *Panacagrimonas* sont plus abondantes dans la rotation BOCB et moins abondantes dans la rotation

Tableau 3 Abondance relative en pourcentage (moyenne $\pm$ erreur type) des genres bactériens sous le blé en fonction de la rotation en 2012 et en 2013. Composition des rotations (le sol a été prélevé sous le blé indiqué en gras) : BOCB, rotation Blé-Orge-Colza-**Blé** ; BOPB, rotation Blé-Orge-Pois-**Blé**, PBCB, rotation Pois-Blé-Colza-**Blé**. Les moyennes suivies par des lettres différentes sont significativement différentes entre les rotations au sein d'une même année ($p < 0.05$)

2012				2013			
Genre bactérien	BOCB	BOPB	PBCB	Genre bactérien	BOCB	BOPB	PBCB
Beijerinckia	0,00 $\pm$ 0,00a	0,015 $\pm$ 0,011ab	0,019 $\pm$ 0,004b	Aeromonas	0,005 $\pm$ 0,003a	0,019 $\pm$ 0,013ab	0,02 $\pm$ 0,005b
Bradyrhizobium	0,617 $\pm$ 0,086a	1,019 $\pm$ 0,043b	0,864 $\pm$ 0,282ab	Conexibacter	0,713 $\pm$ 0,099b	0,326 $\pm$ 0,056a	0,519 $\pm$ 0,074ab
Gemmatimonas	5,905 $\pm$ 0,727a	8,138 $\pm$ 1,96ab	8,578 $\pm$ 0,563b	Cytophaga	0,038 $\pm$ 0,014b	0,00 $\pm$ 0,00a	0,00 $\pm$ 0,00a
Geodermatophilus	0,00 $\pm$ 0,00a	0,017 $\pm$ 0,007b	0,011 $\pm$ 0,004b	Demequina	0,012 $\pm$ 0,009a	0,00 $\pm$ 0,00a	0,064 $\pm$ 0,015b
Janibacter	0,00 $\pm$ 0,00a	0,019 $\pm$ 0,011ab	0,023 $\pm$ 0,008b	Geobacter	0,032 $\pm$ 0,003b	0,011 $\pm$ 0,007a	0,018 $\pm$ 0,008ab
Kofleria	0,845 $\pm$ 0,099a	1,355 $\pm$ 0,227ab	1,393 $\pm$ 0,041b	Methylophilus	0,078 $\pm$ 0,015a	0,086 $\pm$ 0,026a	0,181 $\pm$ 0,018b
Lentzea	0,029 $\pm$ 0,004b	0,015 $\pm$ 0,005a	0,002 $\pm$ 0,002a	Nannocystis	0,204 $\pm$ 0,028b	0,084 $\pm$ 0,025a	0,12 $\pm$ 0,055ab
Limnobacter	0,009 $\pm$ 0,005a	0,015 $\pm$ 0,006a	0,042 $\pm$ 0,004b	Panacagrimonas	0,216 $\pm$ 0,034b	0,106 $\pm$ 0,021a	0,127 $\pm$ 0,018b
Luteibacter	0,017 $\pm$ 0,00a	0,019 $\pm$ 0,007ab	0,005 $\pm$ 0,005b	Pelomonas	0,00 $\pm$ 0,00a	0,011 $\pm$ 0,008b	0,012 $\pm$ 0,005b
Marmoricola	0,067 $\pm$ 0,02b	0,046 $\pm$ 0,02ab	0,013 $\pm$ 0,007a	Pseudomonas	0,706 $\pm$ 0,162a	0,836 $\pm$ 0,213a	1,881 $\pm$ 0,403b
Methylophilus	0,115 $\pm$ 0,019b	0,121 $\pm$ 0,03ab	0,044 $\pm$ 0,02b	Rickettsia	0,002 $\pm$ 0,002a	0,011 $\pm$ 0,00b	0,012 $\pm$ 0,004ab
Microlunatus	0,03 $\pm$ 0,01b	0,022 $\pm$ 0,013ab	0,00 $\pm$ 0,00a	Shinella	0,017 $\pm$ 0,003a	0,051 $\pm$ 0,013b	0,036 $\pm$ 0,013ab
Microvirga	0,45 $\pm$ 0,032a	0,295 $\pm$ 0,102ab	0,232 $\pm$ 0,054b	Smaragdicoccus	0,048 $\pm$ 0,016b	0,056 $\pm$ 0,008ab	0,015 $\pm$ 0,009a
Nannocystis	0,144 $\pm$ 0,032b	0,025 $\pm$ 0,012a	0,046 $\pm$ 0,022a				
Nocardioide	0,267 $\pm$ 0,033b	0,25 $\pm$ 0,062ab	0,103 $\pm$ 0,02b				
Panacagrimonas	0,201 $\pm$ 0,032b	0,115 $\pm$ 0,017a	0,12 $\pm$ 0,02ab				
Phenyllobacterium	0,265 $\pm$ 0,017a	0,584 $\pm$ 0,102b	0,721 $\pm$ 0,166b				
Phyllobacterium	0,047 $\pm$ 0,03ab	0,037 $\pm$ 0,012b	0,005 $\pm$ 0,002a				
Pseudomonas	2,36 $\pm$ 1,494ab	0,879 $\pm$ 0,216b	0,341 $\pm$ 0,061a				
Rhizobacter	0,088 $\pm$ 0,023b	0,024 $\pm$ 0,01a	0,036 $\pm$ 0,012ab				
Sorangium	0,036 $\pm$ 0,008b	0,01 $\pm$ 0,003a	0,012 $\pm$ 0,012ab				

BOPB. En revanche, l'abondance des genres *Methylophilus* et *Pseudomonas* ne varie pas de la même manière en fonction de la rotation les deux années. Dans le cas des échantillons sous couvert de blé issus de la rotation sans pois (BOCB), les genres *Lentzea*, *Marmoricola*, *Methylophilus*, *Microlunatus*, *Nannocystis*, *Nocardioide*, *Panacagrimonas*, *Rhizobacter* et *Sorangium* sont particulièrement abondants en 2012 alors que les genres *Conexibacter*, *Cytophaga*, *Nannocystis*, *Panacagrimonas* et *Smaragdicoccus* sont particulièrement abondants en 2013. Pour les échantillons de sol sous couvert de blé à précédent pois (BOPB), les genres *Bradyrhizobium*, *Geodermatophilus*, *Phenyllobacterium*, *Phyllobacterium* et *Pseudomonas* sont particulièrement abondants en 2012 et les genres *Pelomonas*,

Rickettsia et *Shinella* en 2013. Enfin pour les échantillons de sol de la PBCB, les genres *Beijerinckia*, *Gemmatimonas*, *Geodermatophilus*, *Janibacter*, *Kofleria*, *Limnobacter*, *Luteibacter*, *Methylophilus*, *Microvirga*, *Nocardioide*s et *Phenylobacterium* sont particulièrement abondants en 2012 et les genres *Aeromonas*, *Demequina*, *Methylophilus*, *Panacagrimonas*, *Pelomonas* et *Pseudomonas* en 2013.

Discussion

Effet de la rotation sur les abondances microbiennes et les activités enzymatiques en lien avec la minéralisation de N et de S

La composition des différentes rotations n'a pas d'effet significatif sur l'abondance des communautés microbiennes, infirmant notre première hypothèse. L'absence de différences entre les rotations BOCB et BOPB qui ne diffèrent que par le précédent cultural (colza ou pois) pourrait être attribué à la durée séparant l'enfouissement des résidus et le prélèvement de sol, qui pourrait être suffisante pour atteindre une dégradation importante des résidus et estomper toute différence d'abondance microbienne liée à des différences de qualité biochimique des résidus. Ainsi, en conditions contrôlées, pour des résidus de colza (C/N = 30), la minéralisation atteint environ 60% du C incorporé au bout de 175 jours contre 47% pour des résidus de blé (Niknahad-Gharmarkher et al., 2012). La vitesse de dégradation des résidus dans les sols est fonction de la nature biochimique des résidus et des ratios C/N et C/S. Les cinétiques de minéralisation du carbone pour des résidus de pois et de colza ayant des C/N identiques (environ 13) et des C/S contrastés (respectivement 239 et 37) sont différentes (Churka Blum et al., 2013). Les effets des résidus sur la taille du compartiment microbien dépendent de leur nature avec des effets très transitoires sur la biomasse carbonée après l'incorporation de résidus de moutarde en comparaison de résidus de blé (Piutti et al., 2015). Les différences de biomasse microbienne azotée induites par l'introduction de résidus de pois et d'orge disparaissent après 40 jours (Jensen, 1997). En conditions naturelles, Biederbeck et al. (2005) observent un effet de l'introduction pois dans la rotation sur la biomasse microbienne carbonée 1 an après l'enfouissement des résidus de pois au champ. Néanmoins les traitements comparés, une monoculture et des rotations de deux ans, sont susceptibles d'entraîner des écarts plus importants que l'introduction d'un pois dans une rotation de 3 ans. Si la biomasse microbienne carbonée apparaît comme une variable sensible à la diversification des cultures dans la succession culturale (McDaniel et al., 2014), dans notre travail la taille du compartiment microbien a été appréhendé par quantification du nombre de copies de gènes 16S et 18S. Dans une étude menée sur des microcosmes de sol, Dandie et al. (2007) mettent en évidence une corrélation positive ($r^2=0.69$) entre l'estimation de la taille du compartiment microbien

appréhendé par méthode moléculaire (16S rRNA gene) et la méthode par fumigation-extraction. L'absence de différence entre les précédent pois et colza sur les abondances microbiennes sous blé pourrait aussi être due à des vitesses de décomposition élevées des résidus de Légumineuses et de Brassicacées qui se décomposent plus vite que les résidus de céréales (Cookson et al., 1998 ; Rahn et Lillywhite, 2001 ; Kriauciuniene et al., 2008 ; Wu et al., 2011).

Aucune différence d'activité protéase et arylsulfatase n'a pu être mise en évidence entre les différentes rotations. Cette absence d'effet de la composition de la rotation sur les activités enzymatiques semble cohérente avec l'absence de variation des abondances microbiennes. Si nous avons montré qu'en conditions contrôlées, les résidus du pois provoquaient une augmentation de l'activité protéase dans les mois suivant leur incorporation (Chapitre 3), il faut noter que la comparaison semble difficile du fait d'une part de conditions de culture différentes et d'autre part d'un suivi des activités peu de temps (10-90 jours) après l'incorporation des résidus de pois en conditions contrôlées. Certains auteurs ont mis en évidence au champ des effets positifs du type de rotation sur les activités arylsulfatase et ou protéase. Après plusieurs cycles de rotation, Biederbeck et al. (2005) ont mis en évidence un effet positif d'une rotation pois/blé comparé au blé en monoculture sur l'activité arylsulfatase. Des effets du précédent pois ont également été montrés sur l'activité protéase mais ces effets variaient en fonction de l'année et de la saison d'échantillonnage (Biederbeck et al., 2005 ; Piotrowska-Długosz et Wilczewski, 2014). Nous avons vu au chapitre précédent en considérant différentes cultures que les variations de la minéralisation nette de N et S pouvaient être expliquées par les variations d'activités protéase, arylsulfatase et d'abondance de bactéries protéolytiques. De manière cohérente avec l'absence d'évolution des activités et des abondances microbiennes, la minéralisation nette de N et S n'est pas influencée par la composition de la rotation.

Effet de la rotation sur la composition de la communauté microbienne

La communauté bactérienne de notre sol est dominée par des bactéries appartenant aux Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes et Gemmatimonadetes qui correspondent aux phyla les plus fréquemment identifiés dans les sols agricoles (Janssen, 2006 ; Yin et al., 2010 ; Xuan et al., 2012 ; Zhao et al., 2014). Néanmoins, les Acidobacteria, qui sont souvent bien représentées, sont peu abondantes dans notre sol, ce qui pourrait être lié à des valeurs de pH élevé (Lauber et al., 2009). Il est intéressant de noter que les phyla les plus abondants dans notre étude sont généralement considérés comme copiotrophes (Cleveland et al., 2007 ; Fierer et al., 2007 ; Nemergut et al., 2010 ; Pascault et al., 2010 ; Cederlund et al., 2014).

Si la nature de la succession culturale a un effet sur la richesse en OTU des communautés microbiennes, le gradient de richesse entre les 3 rotations comparées n'est pas le même selon l'année considérée

limitant de ce fait l'interprétation. En revanche la nature de la succession culturale n'a pas d'effet significatif ni sur la structure, ni sur la composition taxonomique de la communauté bactérienne. Néanmoins, les abondances de certaines familles et/ou genres varient en fonction du type de rotation. En 2012, les Deltaproteobacteria sont plus abondantes dans la rotation Pois-Blé-Colza-**Blé** que dans la rotation Blé-Orge-Colza-**Blé** alors que ces dernières ont le même précédent culturel. Si les Proteobacteria sont considérées comme copiotrophes (Bernard et al., 2007 ; Eilers et al., 2010 ; Pascault et al., 2013), les Deltaproteobacteria pourraient être plutôt oligotrophes (Bastian et al., 2009 ; Goldfarb et al., 2011). Par ailleurs, un certain nombre de Deltaproteobacteria sont impliquées dans la réduction du soufre (Foti et al., 2007) ou prédatrices de bactéries (Berleman et Kirby, 2009). Les Gemmatimonadetes sont moins abondantes dans la rotation Blé-Orge-Colza-**Blé** que dans les deux autres rotations incluant le pois. Si peu de choses sont connues sur les Gemmatimonadetes (DeBruyn et al., 2011) du fait d'une faible cultivabilité des espèces appartenant à cette famille, les Gemmatimonadetes semblent plutôt oligotrophes (Pascault et al., 2013) et adaptées à des milieux peu humides (DeBruyn et al., 2011). En 2013, les Firmicutes sont plus abondantes dans la rotation Pois-Blé-Colza-**Blé** que dans les autres rotations alors que les Latescibacteria qui sont peu décrites (Youssef et al., 2015) sont plus abondantes dans la rotation Blé-Orge-Pois-**Blé** que dans la rotation Blé-Orge-Colza-**Blé**. Les Firmicutes sont plutôt intermédiaires entre les stratégies oligotrophes et copiotrophes (Pascault et al., 2013). Parmi les genres dont l'abondance varie en fonction de la rotation, certains sont rarement répertoriés dans les sols agricoles (*Geodermatophilus*, *Kofleria*, *Lentzea*, *Panacagrimonas*, *Sorangium*, *Smaragdicoccus*, *Demequina*, *Rickettsia*), d'autres sont fréquemment observées mais leur écophysiologie est méconnue (*Gemmatimonas* (DeBruyn et al., 2011), *Limnobacter* (Liu et al., 2013), *Nannocystis* (Bernard et al., 2007), *Nocardioides* (Acosta-Martinez et al., 2008), *Phenyllobacterium* (Baldrian et al., 2012), *Conexibacter* (Seki et al., 2012), *Aeromonas* (Li et al., 2011), limitant les possibilités d'interprétation des résultats.

Les variations incohérentes sur les deux années des abondances de phyla et de genres tendent à soutenir l'idée que les analyses de pyroséquençage, comme les autres analyses portant sur les communautés microbiennes des sols, doivent être réalisées sur plusieurs années afin de faire apparaître des tendances significatives. A l'exception de Jung et al., (2015), très peu d'études utilisant le pyroséquençage ont étudié l'effet des rotations sur plusieurs années. Les variations interannuelles pourraient être liées à des différences de conditions météorologiques mais avec seulement deux années, il n'est pas possible de rechercher les facteurs météorologiques responsables.

Conclusion

Nous n'avons pas observé d'effet de la composition de la rotation et ainsi d'effet précédent différentiel sur l'abondance de la communauté microbienne totale, les activités arylsulfatase et protéase, ainsi que sur l'abondance des bactéries responsables de ces activités, sous le blé. En conséquence, la minéralisation d'azote et de soufre n'était pas non plus influencée par la composition de la rotation. Les effets sur la composition et la diversité de la communauté bactérienne sont réduits à des variations d'abondance de quelques taxons en interaction certainement avec les conditions de l'année.

Références

- Acosta-Martinez, V., Dowd, S., Sun, Y., Allen, V., 2008. Tag-encoded pyrosequencing analysis of bacterial diversity in a single soil type as affected by management and land use. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 2762–2770
- Ailincăi, D., Ailincăi, C., Zbanț, M., 2008. Influence of organo-mineral fertilization on wheat and maize crops and the evolution of soil fertility under long-term experiments in the moldavian plain. *Cercetari Agronomice in Moldova* XLI, 33–42.
- Arcand, M.M., Lemke, R., Farrell, R.E., Knight, J.D., 2014. Nitrogen supply from belowground residues of lentil and wheat to a subsequent wheat crop. *Biology and Fertility of Soils* 50, 507–515. doi:10.1007/s00374-013-0873-8
- Baldrian, P., Kolařík, M., Štursová, M., Kopecký, J., Valášková, V., Větrovský, T., Žifčáková, L., Šnajdr, J., Rídl, J., Vlček, Č., Voříšková, J., 2012. Active and total microbial communities in forest soil are largely different and highly stratified during decomposition. *The ISME Journal* 6, 248–258. doi:10.1038/ismej.2011.95
- Bastian, F., Bouziri, L., Nicolardot, B., Ranjard, L., 2009. Impact of wheat straw decomposition on successional patterns of soil microbial community structure. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 262–275. doi:10.1016/j.soilbio.2008.10.024
- Bell, C.W., Asao, S., Calderon, F., Wolk, B., Wallenstein, M.D., 2015. Plant nitrogen uptake drives rhizosphere bacterial community assembly during plant growth. *Soil Biology and Biochemistry* 85, 170–182. doi:10.1016/j.soilbio.2015.03.006
- Berleman, J.E., Kirby, J.R., 2009. Deciphering the hunting strategy of a bacterial wolfpack. *FEMS Microbiology Reviews* 33, 942–57. doi:10.1111/j.1574-6976.2009.00185.x
- Bernard, L., Mougel, C., Maron, P.A., Nowak, V., Lévêque, J., Henault, C., Haichar, F.E.Z., Berge, O., Marol, C., Balesdent, J., Gibiat, F., Lemanceau, P., Ranjard, L., 2007. Dynamics and identification of soil microbial populations actively assimilating carbon from ¹³C-labelled wheat residue as estimated by DNA- and RNA-SIP techniques. *Environmental Microbiology* 9, 752–764. doi:10.1111/j.1462-2920.2006.01197.x
- Biederbeck, V.O., Zentner, R.P., Campbell, C.A., 2005. Soil microbial populations and activities as influenced by legume green fallow in a semiarid climate. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 1775–1784. doi:10.1016/j.soilbio.2005.02.011
- Carpenter-Boggs, L., Pikul, J.L.J., Vigil, M.F., Riedell, W.E., 2000. Soil nitrogen mineralization influenced by crop rotation and nitrogen fertilization. *Soil Science Society Of America Journal* 64, 2038–2045.
- Carrouée, B., Jannot, P., Justes, E., Kouassi, A., Mathys, L., 1999. Fertilisation azotée de trois légumineuses. Le haricot, la luzerne et le pois protéagineux. Comité d'orientation pour des pratiques agricoles respectueuses de l'environnement, Paris, France.

-
- Carter, M.R., Peters, R.D., Noronha, C., Kimpinski, J., 2009. Influence of 10 years of conservation tillage on some biological properties of a fine sandy loam in the potato phase of two crop rotations in Atlantic Canada. *Canadian Journal of Soil Science* 89, 391–402.
- Cayuela, M.L., Sinicco, T., Mondini, C., 2009. Mineralization dynamics and biochemical properties during initial decomposition of plant and animal residues in soil. *Applied Soil Ecology* 41, 118–127. doi:10.1016/j.apsoil.2008.10.001
- Cederlund, H., Wessén, E., Enwall, K., Jones, C.M., Juhanson, J., Pell, M., Philippot, L., Hallin, S., 2014. Soil carbon quality and nitrogen fertilization structure bacterial communities with predictable responses of major bacterial phyla. *Applied Soil Ecology* 84, 62–68. doi:10.1016/j.apsoil.2014.06.003
- Chantigny, M., Prevost, D., Angers, D., Vezina, L., Chalifour, F., 1996. Microbial biomass and N transformations in two soils cropped with annual and perennial species. *Biology and Fertility Of Soils* 21, 239–244.
- Chao, A., 1984. Nonparametric estimation of the number of classes in a population. *Scandinavian Journal of Statistics* 11, 265–270.
- Chao, A., Shen, T.-J., 2003. Nonparametric estimation of Shannon's index of diversity when there are unseen species in sample. *Environmental and Ecological Statistics* 10, 429–443.
- Chao, A., Yang, M.C.K., 1993. Stopping rules and estimation for recapture debugging with unequal failure rates. *Biometrika* 80, 193–201.
- Chapman, S.K., Langley, J.A., Hart, S.C., Koch, G.W., 2005. Plants actively control nitrogen cycling : uncorking the microbial bottleneck. *New Phytologist* 169, 27–34. doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01571.x
- Chen, L., Zhang, J., Zhao, B., Yan, P., Zhou, G., Xin, X., 2014. Effects of straw amendment and moisture on microbial communities in Chinese fluvo-aquic soil. *Journal of Soils and Sediments* 14, 1829–1840. doi:10.1007/s11368-014-0924-2
- Churka Blum, S., Lehmann, J., Solomon, D., Caires, E.F., Alleoni, L.R.F., 2013. Sulfur forms in organic substrates affecting S mineralization in soil. *Geoderma* 200–201, 156–164. doi:10.1016/j.geoderma.2013.02.003
- Cleveland, C.C., Nemergut, D.R., Schmidt, S.K., Townsend, A.R., 2007. Increases in soil respiration following labile carbon additions linked to rapid shifts in soil microbial community composition. *Biogeochemistry* 82, 229–240. doi:10.1007/s10533-006-9065-z
- Cole, J.R., Wang, Q., Fish, J. a., Chai, B., McGarrell, D.M., Sun, Y., Brown, C.T., Porras-Alfaro, a., Kuske, C.R., Tiedje, J.M., 2014. Ribosomal Database Project: data and tools for high throughput rRNA analysis. *Nucleic Acids Research* 42, D633–D642. doi:10.1093/nar/gkt1244
- Cookson, W.R., Beare, M.H., Wilson, P.E., 1998. Effects of prior crop residue management on microbial properties and crop residue decomposition. *Applied Soil Ecology* 7, 179–188. doi:10.1016/S0929-1393(97)00032-2
- Cregut, M., Piutti, S., Vong, P., Slezack-deschaumes, S., Crovisier, I., Benizri, E., 2009. Density, structure, and diversity of the cultivable arylsulfatase-producing bacterial community in the rhizosphere of field-grown rape and barley. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 704–710. doi:10.1016/j.soilbio.2009.01.005
- Dandie, C.E., Miller, M.N., Burton, D.L., Zebarth, B.J., Trevors, J.T., Goyer, C., 2007. Nitric oxide reductase-targeted real-time PCR quantification of denitrifier populations in soil. *Applied and Environmental Microbiology* 73, 4250–4258. doi:10.1128/AEM.00081-07
- De Varennes, A., Torres, M.O., Cunha-Queda, C., Goss, M.J., Carranca, C., 2007. Nitrogen conservation in soil and crop residues as affected by crop rotation and soil disturbance under Mediterranean conditions. *Biology and Fertility of Soils* 44, 49–58. doi:10.1007/s00374-007-0177-y
- DeBruyn, J.M., Nixon, L.T., Fawaz, M.N., Johnson, a. M., Radosevich, M., 2011. Global biogeography and quantitative seasonal dynamics of gemmatimonadetes in soil. *Applied and Environmental Microbiology* 77, 6295–6300. doi:10.1128/AEM.05005-11
- Dodor, Tabatabai, M.A., 2003. Effect of cropping systems on phosphatases in soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 166, 7–13. doi:10.1007/s003740050647

- Dornbush, M.E., 2007. Grasses, litter, and their interaction affect microbial biomass and soil enzyme activity. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2241–2249. doi:10.1016/j.soilbio.2007.03.018
- Edgar, R.C., Haas, B.J., Clemente, J.C., Quince, C., Knight, R., 2011. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics* 27, 2194–2200. doi:10.1093/bioinformatics/btr381
- Edwards, J., Wood, C., Thurlow, D., Ruf, M., 1992. Tillage and crop-rotation effects on fertility status of a hapludult soil. *Soil Science Society of America Journal* 56, 1577–1582.
- Eilers, K.G., Lauber, C.L., Knight, R., Fierer, N., 2010 Shifts in bacterial community structure associated with inputs of low molecular weight carbon compounds to soil. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 896–903
- Ekenler, M., Tabatabai, M.A., 2002. B-glucosaminidase activity of soils: Effect of cropping systems and its relationship to nitrogen mineralization. *Biology and Fertility of Soils* 36, 367–376. doi:10.1007/s00374-002-0541-x
- Engström, L., Lindén, B., 2012. Temporal course of net N mineralization and immobilization in topsoil following incorporation of crop residues of winter oilseed rape, peas and oats in a northern climate. *Soil Use and Management* 28, 436–447. doi:10.1111/sum.12004
- Eriksen, J., Olesen, J.E., Askegaard, M., 2002. Sulphate leaching and sulphur balances of an organic cereal crop rotation on three Danish soils 17, 1–9.
- Evans, J., McNeill, A.M., Unkovich, M.J., Fettell, N.A., Heenan, D.P., 2001. Net nitrogen balances for cool-season grain legume crops and contributions to wheat nitrogen uptake: a review. *Australian Journal Of Experimental Agriculture* 41, 347–359. doi:10.1071/EA00036
- Evans, J., Sheneman, L., Foster, J., 2006. Relaxed Neighbor Joining: A fast distance-based phylogenetic tree construction method. *Journal of Molecular Evolution* 62, 785–792. doi:10.1007/s00239-005-0176-2
- Faith, D.P., 1992. Conservation evaluation and phylogenetic diversity. *Biological Conservation* 61, 1–10. doi:10.1016/0006-3207(92)91201-3
- Fierer, N., Bradford, M.A., Jackson, R.B., 2007. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology* 88, 1354–1364.
- Foti, M., Sorokin, D.Y., Lomans, B., Mussman, M., Zacharova, E.E., Pimenov, N. V., Kuenen, J.G., Muyzer, G., 2007. Diversity, activity, and abundance of sulfate-reducing bacteria in saline and hypersaline soda lakes. *Applied and Environmental Microbiology* 73, 2093–2100. doi:10.1128/AEM.02622-06
- Fox, J., 2005. The R Commander: A basic statistics graphical user interface to R. *Journal of Statistical Software* 14, 1–42.
- Frankenberger, W.T., Johanson, J.B., 1986. Use of plasmolytic agents and antiseptics in soil enzyme assays. *Soil Biology and Biochemistry* 18, 209–213. doi:10.1016/0038-0717(86)90029-5
- Gan, Y.T.A., Liang, B.C.B., Liu, L.P.C., Wang, X.Y.A., McDonald, C.L.A., 2011. C:N ratios and carbon distribution profile across rooting zones in oilseed and pulse crops. *Crop and Pasture Science* 62, 496–503.
- Gentile, R., Vanlauwe, B., Chivenge, P., Six, J., 2011. Trade-offs between the short- and long-term effects of residue quality on soil C and N dynamics. *Plant and Soil* 338, 159–169. doi:10.1007/s11104-010-0360-z
- Goldfarb, K.C., Karaoz, U., Hanson, C. a., Santee, C. a., Bradford, M. a., Treseder, K.K., Wallenstein, M.D., Brodie, E.L., 2011. Differential growth responses of soil bacterial taxa to carbon substrates of varying chemical recalcitrance. *Frontiers in Microbiology* 2, 1–10. doi:10.3389/fmicb.2011.00094
- Good, I.J., 1953. The population frequencies of species and the estimation of population parameters. *Biometrika* 40, 237–264. doi:10.1017/CBO9781107415324.004
- Gschwendtner, S., Reichmann, M., Müller, M., Radl, V., Munch, J.C., 2010. Abundance of bacterial genes encoding for proteases and chitinases in the rhizosphere of three different potato cultivars. *Biology and Fertility of Soils* 46, 649–652. doi:10.1007/s00374-010-0460-1
- Hauggaard-Nielsen, H., Mundus, S., Jensen, E.S., 2009. Nitrogen dynamics following grain legumes and subsequent catch crops and the effects on succeeding cereal crops. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 84, 281–291. doi:10.1007/s10705-008-9242-7

-
- Haynes, R.J., Beare, M.H., 1997. Influence stability of six crop species on aggregate and some labile organic matter fractions. *Soil Biology and Biochemistry* 29, 1647–1653. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0038-0717\(97\)00078-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0038-0717(97)00078-3)
- Haynes, R.J., Francis, G.H., 1993. Changes in microbial biomass C, soil carbohydrate composition and aggregate stability induced by growth of selected crop and forage species under field conditions. *Journal of Soil Science* 44, 665–675.
- Inselsbacher, E., Hinko-Najera Umana, N., Stange, F.C., Gorfer, M., Schüller, E., Ripka, K., Zechmeister-Boltenstern, S., Hood-Novotny, R., Strauss, J., Wanek, W., 2010. Short-term competition between crop plants and soil microbes for inorganic N fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 360–372. doi:[10.1016/j.soilbio.2009.11.019](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.019)
- Janssen, P.H., 2006. Identifying the Dominant Soil Bacterial Taxa in Libraries of 16S rRNA and 16S rRNA Genes. *Applied and Environmental Microbiology* 72, 1719–1728. doi:[10.1128/AEM.72.3.1719](https://doi.org/10.1128/AEM.72.3.1719)
- Jensen, E.S., 1997. Nitrogen immobilization and mineralization during initial decomposition of ¹⁵N-labelled pea and barley residues. *Biology and Fertility of Soils* 24, 39–44.
- Jensen, E.S., 1996a. Nitrogen acquisition by pea and barley and the effect of their crop residues on available nitrogen for subsequent crops. *Biology and Fertility of Soils* 23, 459–464. doi:[10.1007/BF00335923](https://doi.org/10.1007/BF00335923)
- Jensen, E.S., 1996b. Rhizodeposition of N by pea and barley and its effect on soil N dynamics. *Soil Biology and Biochemistry* 28, 65–71.
- Jensen, E.S., 1996. Compared cycling in a soil-plant system of pea and barley residue nitrogen. *Plant and Soil* 182, 13–23.
- Jensen, L.S., Salo, T., Palmason, F., Breland, T.A., Henriksen, T.M., Stenberg, B., Pedersen, A., Lundström, C., Esala, M., 2005. Influence of biochemical quality on C and N mineralisation from a broad variety of plant materials in soil. *Plant and Soil* 273, 307–326. doi:[10.1007/s11104-004-8128-y](https://doi.org/10.1007/s11104-004-8128-y)
- Jung, B.K., Kim, S.-D., Khan, A.R., Lim, J.-H., An, C.-H., Kim, Y.-H., Song, J.H., Hong, S.-J., Shin, J.-H., 2015. Rhizobacterial communities and Red Pepper (*Capsicum annum*) yield under different cropping systems. *International Journal of Agriculture and Biology* 17, 734–740. doi:[10.17957/IJAB/14.0010](https://doi.org/10.17957/IJAB/14.0010)
- Klose, S., Moore, J., Tabatabai, M., 1999. Arylsulfatase activity of microbial biomass in soils as affected by cropping systems. *Biology and Fertility of Soils* 29, 46–54.
- Klose, S., Tabatabai, M.A., 2000. Urease activity of microbial biomass in soils as affected by cropping systems. *Biology and Fertility of Soils* 31, 191–199. doi:[10.1007/s003740050645](https://doi.org/10.1007/s003740050645)
- Knops, J.M.H., Bradley, K.L., Wedin, D.A., 2002. Mechanisms of plant species impacts on ecosystem nitrogen cycling. *Ecology Letters* 5, 454–466. doi:[10.1046/j.1461-0248.2002.00332.x](https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2002.00332.x)
- Kriauciūnienė, Z., 2008. Cenosis structure and species composition dynamics of micromycetes decomposing crop root residues in soil 54, 36–44.
- Kumar, K., Goh, K.M., 2002. Management practices of antecedent leguminous and non-leguminous crop residues in relation to winter wheat yields, nitrogen uptake, soil nitrogen mineralization and simple nitrogen balance. *European Journal of Agronomy* 16, 295–308.
- Kuramae, E.E., Yergeau, E., Wong, L.C., Pijl, A.S., Veen, J. a., Kowalchuk, G. a., 2012. Soil characteristics more strongly influence soil bacterial communities than land-use type. *FEMS Microbiology Ecology* 79, 12–24. doi:[10.1111/j.1574-6941.2011.01192.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01192.x)
- Ladd, J.N., Butler, J.H.A., 1972. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biology and Biochemistry* 4, 19–30. doi:[10.1016/0038-0717\(72\)90038-7](https://doi.org/10.1016/0038-0717(72)90038-7)
- Lauber, C.L., Hamady, M., Knight, R., Fierer, N., 2009. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Applied and Environmental Microbiology* 75, 5111–5120. doi:[10.1128/AEM.00335-09](https://doi.org/10.1128/AEM.00335-09)

- Legay, N., Personeni, E., Slezack-Deschaumes, S., Piutti, S., Cliquet, J.B., 2014. Grassland species show similar strategies for sulphur and nitrogen acquisition. *Plant and Soil* 375, 113–126. doi:10.1007/s11104-013-1949-9
- Li, J., Jin, Z., Gu, Q., 2011. Effect of plant species on the function and structure of the bacterial community in the rhizosphere of lead – zinc mine tailings in Zhejiang, China. *Canadian Journal of Microbiology* 57, 569–577. doi:10.1139/W11-054
- Li, R., Khafipour, E., Krause, D.O., Entz, M.H., de Kievit, T.R., Fernando, W.G.D., 2012. Pyrosequencing Reveals the Influence of Organic and Conventional Farming Systems on Bacterial Communities. *PLoS ONE* 7, e51897. doi:10.1371/journal.pone.0051897
- Liu, Y., Zuo, S., Zou, Y., Wang, J., Song, W., 2013. Investigation on diversity and population succession dynamics of endophytic bacteria from seeds of maize (*Zea mays* L., Nongda108) at different growth stages. *Annals of Microbiology* 63, 71–79. doi:10.1007/s11274-011-0822-3
- Lloyd, M., Ghelardi, R., 1964. A Table for calculating the equitability component of species diversity. *The Journal of Animal Ecology* 33, 217–225.
- Lopez-Gutierrez, J.C., Henry, S., Hallet, S., Martin-Laurent, F., Catroux, G., Philippot, L., 2004. Quantification of a novel group of nitrate-reducing bacteria in the environment by real-time PCR. *Journal of Microbiological Methods* 57, 399–407. doi:10.1016/j.mimet.2004.02.009
- Lozupone, C., Knight, R., 2005. UniFrac : A new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 71, 8228–8235. doi:10.1128/AEM.71.12.8228
- Lupwayi, N.Z., Clayton, G.W., O'Donovan, J.T., Harker, K.N., Turkington, T.K., Soon, Y.K., 2006. Nitrogen release during decomposition of crop residues under conventional and zero tillage. *Canadian Journal of Soil Science* 86, 11–19. doi:10.1016/j.still.2007.01.007
- Marschner, P., Kandeler, E., Marschner, B., 2003. Structure and function of the soil microbial community in a long-term fertilizer experiment. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 453–461. doi:10.1016/S0038-0717(02)00297-3
- Mary, B., Recous, S., Darwis, D., Robin, D., 1996. Interactions between decomposition of plant residues and nitrogen cycling in soil. *Plant and Soil* 181, 71–82.
- Mary, B., Recous, S., Darwis, D., Robin, D., 1996. Interactions between decomposition of plant residues and nitrogen cycling in soil. *Plant and Soil* 181, 71–82. doi:10.1007/BF00011294
- McDaniel, M.D., Tiemann, L.K., Grandy, a. S., 2014. Does agricultural crop diversity enhance soil microbial biomass and organic matter dynamics? A meta-analysis. *Ecological Applications* 24, 560–570. doi:10.1890/13-0616.1
- Melero, S., López-Bellido, R.J., López-Bellido, L., Muñoz-Romero, V., Moreno, F., Murillo, J.M., 2011. Long-term effect of tillage, rotation and nitrogen fertiliser on soil quality in a Mediterranean Vertisol. *Soil and Tillage Research* 114, 97–107. doi:10.1016/j.still.2011.04.007
- Nemergut, D.R., Cleveland, C.C., Wieder, W.R., Washenberger, C.L., Townsend, A.R., 2010. Plot-scale manipulations of organic matter inputs to soils correlate with shifts in microbial community composition in a lowland tropical rain forest. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 2153–2160. doi:10.1016/j.soilbio.2010.08.011
- Niknahad-Gharmakher, H., Piutti, S., Machet, J.-M., Benizri, E., Recous, S., 2012. Mineralization-immobilization of sulphur in a soil during decomposition of plant residues of varied chemical composition and S content. *Plant and Soil* 1–14.
- Pascual, N., Cécillon, L., Mathieu, O., Hénault, C., Sarr, A., Lévêque, J., Farcy, P., Ranjard, L., Maron, P.-A., 2010. In situ dynamics of microbial communities during decomposition of wheat, rape, and alfalfa residues. *Microbial Ecology* 60, 816–828. doi:10.1007/s00248-010-9705-7
- Pascual, N., Ranjard, L., Kaisermann, A., Bachar, D., Christen, R., Terrat, S., Mathieu, O., Lévêque, J., Mougél, C., Hénault, C., Lemanceau, P., Péan, M., Boiry, S., Fontaine, S., Maron, P.A., 2013. Stimulation of different functional groups of bacteria by various plant residues as a driver of soil priming effect. *Ecosystems* 16, 810–822. doi:10.1007/s10021-013-9650-7

-
- Paterson, E., Gebbing, T., Abel, C., Sim, A., Telfer, G., 2007. Rhizodeposition shapes rhizosphere microbial community structure in organic soil. *New Phytologist* 173, 600–610.
- Perucci, P., Bonciarelli, U., Santilocchi, R., Bianchi, a. a., 1997. Effect of rotation, nitrogen fertilization and management of crop residues on some chemical, microbiological and biochemical properties of soil. *Biology and Fertility of Soils* 24, 311–316. doi:10.1007/s003740050249
- Perucci, P., Scarponi, L., 1984. Arylsulphatase activity in soils amended with crop residues: Kinetic and thermodynamic parameters. *Soil Biology and Biochemistry* 16, 605–608. doi:10.1016/0038-0717(84)90080-4
- Perucci, P., Scarponi, L., Businelli, M., 1984. Enzyme activities in a clay-loam soil amended with various crop residues. *Plant and Soil* 1, 345–351.
- Piotrowska-Długosz, A., Wilczewski, E., 2014. Assessment of soil nitrogen and related enzymes as influenced by the incorporation time of field pea cultivated as a catch crop in Alfisol. *Environmental Monitoring and Assessment* 186, 8425–8441. doi:10.1007/s10661-014-4014-0
- Piutti, S., Slezacek-Deschaumes, S., Niknahad-Gharmakher, H., Vong, P.-C., Recous, S., Benizri, E., 2015. Relationships between the density and activity of microbial communities possessing arylsulfatase activity and soil sulfate dynamics during the decomposition of plant residues in soil. *European Journal of Soil Biology* 70, 88–96. doi:10.1016/j.ejsobi.2015.07.007
- Pohlert, T., 2014. The pairwise multiple comparison of mean ranks package (PMCMR). R Package.
- Prévost-Bourré, N.C., Christen, R., Dequiedt, S., Mougel, C., Lelivre, M., Jolivet, C., Shahbazkia, H.R., Guillou, L., Arrouays, D., Ranjard, L., 2011. Validation and application of a PCR primer set to quantify fungal communities in the soil environment by real-time quantitative PCR. *PLoS ONE* 6, 1–13. doi:10.1371/journal.pone.0024166
- Pruesse, E., Quast, C., Knittel, K., Fuchs, B.M., Ludwig, W., Peplies, J., Glöckner, F.O., 2007. SILVA: A comprehensive online resource for quality checked and aligned ribosomal RNA sequence data compatible with ARB. *Nucleic Acids Research* 35, 7188–7196. doi:10.1093/nar/gkm864
- Rahn, C., Lillywhite, R., 2002. A study of the quality factors affecting the short-term decomposition of field vegetable residues. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82, 19–26. doi:10.1002/jsfa.1003
- Rasmussen, P.E., Douglas, C.L., Collins, H.P., Albrecht, S.L., 1998. Long-term cropping system effects on mineralizable nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 30, 1829–1837. doi:10.1016/S0038-0717(98)00057-1
- Recous, S., Robin, D., Darwis, D., Mary, B., 1995. Soil inorganic N availability: Effect on maize residue decomposition. *Soil Biology and Biochemistry* 27, 1529–1538. doi:10.1016/0038-0717(95)00096-W
- Sainju, U.M., Lenssen, A.W., Caesar-TonThat, T., Jabro, J.D., Lartey, R.T., Evans, R.G., Allen, B.L., 2012. Dryland soil nitrogen cycling influenced by tillage, crop rotation, and cultural practice. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 93, 309–322. doi:10.1007/s10705-012-9518-9
- Sanders, H.L., 1968. Benthic diversity : A comparative study. *The American Naturalist* 102, 243–282.
- Schloss, P.D., Gevers, D., Westcott, S.L., 2011. Reducing the effects of PCR amplification and sequencing Artifacts on 16s rRNA-based studies. *PLoS ONE* 6. doi:10.1371/journal.pone.0027310
- Schloss, P.D., Westcott, S.L., Ryabin, T., Hall, J.R., Hartmann, M., Hollister, E.B., Lesniewski, R. a., Oakley, B.B., Parks, D.H., Robinson, C.J., Sahl, J.W., Stres, B., Thallinger, G.G., Van Horn, D.J., Weber, C.F., 2009. Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 75, 7537–7541. doi:10.1128/AEM.01541-09
- Seki, T., Matsumoto, A., Shimada, R., Inahashi, Y., Omura, S., Takahashi, Y., 2012. *Conexibacter arvalis* sp nov., isolated from a cultivated field soil sample. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 62, 2400–2404. doi:10.1099/ijs.0.036095-0
- Sieling, K., Kage, H., 2006. N balance as an indicator of N leaching in an oilseed rape - winter wheat - winter barley rotation. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 115, 261–269. doi:10.1016/j.agee.2006.01.011

- Simpson, E.H., 1949. Measurement of diversity. *Nature* 163, 688.
- Soon, Y.K., Arshad, M.A., 2002. Comparison of the decomposition and N and P mineralization of canola, pea and wheat residues. *Biology and Fertility of Soils* 36, 10–17. doi:10.1007/s00374-002-0518-9
- Tabatabai, M.A., Bremner, J.M., 1970. Arylsulfatase activity of soils. *Soil Science Society of America Journal* 34, 225–229.
- Trinsoutrot, I., Recous, S., Mary, B., Nicolardot, B., 2000. C and N fluxes of decomposing ¹³C and ¹⁵N *Brassica napus* L.: effects of residue composition and N content. *Soil Biology and Biochemistry* 32, 1717–1730. doi:10.1016/S0038-0717(00)00090-0
- Vong, P., Dedourge, O., Lasserre-Joulin, F., Guckert, A., 2003. Immobilized-S, microbial biomass-S and soil arylsulfatase activity in the rhizosphere soil of rape and barley as affected by labile substrate C and N additions. *SOIL BIOLOGY AND BIOCHEMISTRY* 35, 1651–1661. doi:10.1016/j.soilbio.2003.08.012
- Walker, D.R., Doornenbal, G., 1972. Soil sulfate II. As an index of the sulfur available to legumes. *Canadian Journal of Soil Science* 52, 261–266.
- Wang, Q., Garrity, G.M., Tiedje, J.M., Cole, J.R., 2007. Naive bayesian classifier for rapid assignment of rrna sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology* 73, 5261–5267. doi:10.1128/AEM.00062-07
- White, I.R., Royston, P., 2009. Imputing missing covariate values for the Cox model. *Statistics in Medicine* 28, 1982–1998. doi:10.1002/sim
- Wichern, F., Mayer, J., Georg, R., Müller, T., 2007a. Rhizodeposition of C and N in peas and oats after ¹³C – ¹⁵N double labelling under field conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2527–2537. doi:10.1016/j.soilbio.2007.04.022
- Wichern, F., Mayer, J., Joergensen, R.G., Müller, T., 2007b. Release of C and N from roots of peas and oats and their availability to soil microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2829–2839. doi:10.1016/j.soilbio.2007.06.006
- Wu, J., Guo, X., Wang, Y., Xu, Z., Zhang, X., Lu, J., 2011. Decomposition characteristics of rapeseed and wheat straw under different water regimes and straw incorporating models. *Journal of Food Agriculture and Environment* 9, 572–577.
- Wu, J., O'Donnell, a. G., Syers, J.K., 1993. Microbial growth and sulphur immobilization following the incorporation of plant residues into soil. *Soil Biology and Biochemistry* 25, 1567–1573. doi:10.1016/0038-0717(93)90012-Z
- Wyss, C., 1989. *Campylobacter-Wolinella* group organisms are the only oral bacteria that form arylsulfatase-active colonies on a synthetic indicator medium. *Infection and Immunity* 57, 1380–1383.
- Xuan, D.T., Guong, V.T., Rosling, A., Alström, S., Chai, B., Högborg, N., 2012. Different crop rotation systems as drivers of change in soil bacterial community structure and yield of rice, *Oryza sativa*. *Biology and Fertility of Soils* 48, 217–225. doi:10.1007/s00374-011-0618-5
- Yang, X., Kay, B., 2001. Rotation and tillage effects on soil organic carbon sequestration in a typic Hapludalf in Southern Ontario. *Soil and Tillage Research* 59, 107–114. doi:10.1016/S0167-1987(01)00162-3
- Yates, F., 1954. The Analysis of Experiments Containing Different Crop Rotations. *Biometrics* 10, 324–346.
- Yin, C., Jones, K.L., Peterson, D.E., Garrett, K.A., Hulbert, S.H., Paulitz, T.C., 2010. Members of soil bacterial communities sensitive to tillage and crop rotation. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 2111–2118. doi:10.1016/j.soilbio.2010.08.006
- Youssef, N.H., Farag, I.F., Rinke, C., Hallam, S.J., Woyke, T., Elshahed, M.S., 2015. In Silico Analysis of the Metabolic Potential and Niche Specialization of Candidate Phylum “*Latescibacteria*” (WS3). *Plos One* 10, e0127499. doi:10.1371/journal.pone.0127499
- Zhao, J., Zhang, R., Xue, C., Xun, W., Sun, L., Xu, Y., Shen, Q., 2014. Pyrosequencing reveals contrasting soil bacterial diversity and community structure of two main winter wheat cropping systems in China. *Microbial Ecology* 67, 443–453. doi:10.1007/s00248-013-0322-0

Effect of crops species on crop-weeds functional niches overlap and weeds functional traits involved in competition

Nicolas Romillac^{a,b}, Séverine Piutti^{a,b}, Sophie Slezack-Deschaumes^{a,b}, Bernard Amiaud^{c,d},

^a Université de Lorraine, Laboratoire Agronomie et Environnement, UMR 1121, TSA 40602, F-54518Vandœuvre cedex, France

^b INRA, Laboratoire Agronomie et Environnement, UMR 1121, TSA 40602, F-54518Vandœuvre cedex, France

^c Université de Lorraine, UMR 1137, Ecologie et Ecophysiologie Forestière, F-54500 Vandœuvre lès Nancy, France

^d INRA, UMR 1137, Ecologie et Ecophysiologie Forestière, F-54280 Champenoux, France

Mis en forme pour **PLOS ONE**

Abstract: In agroecosystems, weed communities are involved in competition with the crops. Nevertheless, the relationships between disturbance-like agricultural practices, crops-weeds relationships and weed communities' functional composition are not fully understood. Using functional traits involved in resource acquisition and competitive ability measured at the individual scale in a rotation experiment, we compared the weed functional diversity in two crops (oilseed rape and pea) which differ in their competitive ability and their sowing date, and in two wheat crops following either oilseed rape or pea. We quantified the overlap between weeds and crop functional traits values as a proxy of competition. In the less competitive crop, i.e. pea, weed communities were more abundant, presented a more competitive phenotype (i.e. higher height and lateral spread) and were functionally more diverse, revealing a higher diversity of ecological strategies than in the oilseed rape crop. As a consequence, the weeds functional niche overlapped more with the pea niche, resulting in a potentially more competitive weed flora in pea than in oilseed rape. Weeds community in wheat with different previous crop were taxonomically different but presented near identical functional identity and diversity for height, lateral spread, specific leaf area and leaf dry matter content. The overlap between wheat and weeds functional traits was not influenced by the previous crop, except for the height. Nevertheless, weed communities in wheat after pea are far less abundant than in wheat after oilseed rape. This should ultimately reduce the crop-weed competition in wheat after pea compared to wheat after oilseed rape.

Key words: *Brassica napus*, *Pisum sativum*, functional niche, niche overlap, crop-weed competition, functional diversity, specific leaf area, leaf dry matter content, height, lateral spread

Introduction

At the level of plant communities, many biotic and abiotic factors are considered to lead to a specific assemblage of species within the community (Belyea and Lancaster, 1999). These factors acts as environmental filters (Garnier and Navas, 2012) at different global (Ulrich et al., 2014), regional (Tanaka and Koike, 2011) and field scales (Petit and Fried, 2012). Ecological theories and recent field studies show that functional approach is a useful tool to understand such assembly rules (Garnier and Navas, 2012; Gaba et al., 2014), especially in the understanding of relationships between species and their realized ecological niche (McGill et al., 2006; Weiher et al., 2011). The classical niche-based theory describes the ability of species to exploit a variability of environment which leads to a niche differentiation (Hutchinson, 1957; Vandermeer, 1972; Silvertown, 2004). In this point of view, niche differentiation limit competition between species within the communities. Niche differentiation should result in niche complementarity, which leads to a higher exploitation of the diverse resources and a decrease of competition (Smith et al., 2009). However, taking into account a functional approach it is possible to go further in understanding the assemblage rules. Indeed, in this context functional studies focused on two main hypotheses: habitat filtering, which can decrease functional diversity through abiotic constraints (Garnier and Navas, 2012), and competitive interactions that limit similarity

between species and increase functional diversity (Schwilk and Ackerly, 2005). A recent literature has suggested that niches quantification may be done by measurements of functional traits (Rosenfeld, 2002; Mouillot et al., 2005; McGill et al., 2006; Kearney et al., 2010). Functional traits are considered as morphological, physiological and phenological characteristics of individuals that are directly related to plant performance (Violle et al. 2007). The traits based approaches should allow assessing the dominant processes involved in the community assemblage. Habitat filtering should result in functional traits convergence while niche differentiation should result in a divergence of functional trait values (Grime, 2006; Navas and Violle, 2009; Garnier and Navas, 2012; de Bello et al., 2012).

The relative importance of habitat filtering and niche differentiation for community assemblage varies according to the disturbance frequency and resource availability (Pakeman et al., 2011; Bernard-Verdier et al., 2012; May et al., 2013). Agroecosystems are characterized by frequent disturbance and abundant resources such as soil nutrients or light due to fertilization and a high share of open space for plant communities. In agroecosystems, plant communities including crops and weed communities observed among crops, are submitted to frequent disturbances. Despite the niche differentiation theory, in rich environment some studies demonstrated the coexistence of species with similar functional distribution of sampled traits (Bernard-Verdier et al., 2012; Price et al., 2014). Nevertheless, the relationships between disturbance like agricultural practices, crops-weeds relationships and weed communities' functional composition are not fully understood (Hernández Plaza et al., 2015). Storkey (2006) identified weed functional groups having different competitiveness toward crops, based on trade-offs between traits. Traits databases and nationwide weed surveys (Fried et al., 2009, 2012, 2015) or traits databases and modeling (Storkey et al., 2014; Colbach et al., 2014) proved their usefulness to identify functional traits involved in competition between crops and weed species. Exception for the plant height, most of the pertinent traits identified by these authors were traits linked to phenology and reproduction, such as chilling requirement to break dormancy, germination season, flowering onset and duration or seed mass. Nevertheless, traits involved in reproduction and traits involved in resource acquisition can respond in different ways to disturbances and biotic relationships (Grime, 2006). Furthermore, traits involved in resource acquisition and competition response, such as height and specific leaf area, can present strong intraspecific variability (Perronne et al., 2014), which challenges the use of trait values databases. This element argues for traits measurements in field conditions. As quantifying competition between plants in natural conditions is difficult and the methodology is controversial (Freckleton et al., 1999; Freckleton et al., 2009), we chose an indirect approach based on estimating the overlap between the crop and weeds ecological niche based on functional traits measurements. The overlap between functional trait values of crops

and weeds communities will be considered the proxy of an overlap between ecological niches (Mouillot et al., 2005; Mason et al., 2011).

Using data collected in a rotation experiment, we compared weed functional diversity in two crops (oilseed rape and pea) which differ in their competitive ability (Gunton et al., 2011) and their sowing date, and in two wheat crops preceded by either oilseed rape or pea, as well as the overlap between weeds and crop functional traits values. Specifically, we hypothesized that (1) in pea crops, weeds will be more abundant, and functionally more diverse than in oilseed rape due to the low competitiveness and late sowing date of pea; that (2) wheat following pea will have a functionally more diverse weed community, compared to wheat following oilseed rape, as weed populations are largely determined by the field history; we then hypothesized that (3) a functionally more diverse weed community will lead to less overlap between crop and weeds. In order to test these hypotheses, we quantified the functional diversity of 4 traits involved in resources acquisition and competitive response, i.e. height, lateral spread, specific leaf area and leaf dry matter content (Dingkuhn et al., 1999; Caton 2001; Den Hollander et al., 2007; Deveikyte et al., 2008; Singh et Singh, 2012). The present study analyses the effect of competition between weed and crops on both the mean value (i.e. community weighted mean) and on the distribution (i.e. functional trait diversity) of response traits within different crop and weed communities using the Mason's et al. (2005) functional diversity framework, i.e. measuring functional identity, functional richness, functional evenness and functional divergence.

Material and methods

Field experiment

A field experiment has been established at the Bouzule experimental farm (Champenoux, France, 48° 74' N, 6° 35' E) in the cropping season 2008-2009. The climate of the region is continental with an average annual rainfall of 775 mm and an annual average temperature of 10 °C. The soil is a Vertic Cambisol with the following characteristics: 62% clay, 35% silt, 3% sand, 6 % organic matter, 26 g kg⁻¹ organic carbon and 2.6 g kg⁻¹ total nitrogen, pH (water) 7.1.

The experimental design consisted of 3 blocks (100 x 72 m). Each block was divided in 8 plots of 50 x 18 m. Prior to the experiment the site was cultivated with the sequence maize (2005-2006) – maize (2006-2007) - spring barley (2007-2008). Crops were cultivated in 3- or 5-years rotations in a randomized “phases differences” design (Yates, 1954), allowing each of the cropping phases of the two rotations to be present each year in each block. The 3 years' rotation was: winter oilseed rape (*Brassica napus* L.), winter wheat (*Triticum aestivum* L.) and winter barley (*Hordeum vulgare* L.). The 5 years'

rotation was: winter oilseed rape, winter wheat, winter barley, spring pea (*Pisum sativum* L.) and winter wheat. Rape crop and wheat crop were thus replicated twice per block per year while only one pea crop per block was present each year. During the 2011-2012 crop cycle, winter wheat was destroyed by intense frost and replaced by spring wheat.

Each culture was managed according to regional recommendations for fertilization and sowing date. The plots were deep-tilled one time a year with a mouldboard plough. Sowing was realized with a harrow-seed drill combination. Each year, winter wheat and winter barley were sown in October, winter oilseed rape and spring pea were sown in September and March, respectively. Nitrogen and sulphur fertilization was realized with ammonium nitrate, urea or ammonium sulfonitrate, depending on years. Annual fertilization was on average 174 kg N ha⁻¹ and 60 kg S ha⁻¹ for rape and 206 kg N ha⁻¹ for barley. Pea plots did not receive N or S fertilization. All plots were fertilized with 95 kg P-Ca(H₂PO₄)₂ and 63 kg K-KCl ha⁻¹ in March 2011. Cereals straw was exported. Plant protection was managed according to the regional alert thresholds.

Weeds and crops sampling

Oilseed rape and pea weed populations were samples in June 2011 and wheat weed populations were sampled in June 2012. Prior to herbicide applications, three spots per plot were excluded from herbicide treatments by covering them with 5 x 15 m plastic sheets during treatments. Sheets were disposed on the diagonal of the plot and at least 4.5 m apart from the edges in order to avoid edge effect. In each of the spot, weeds were sampled 3 times at 4 m intervals within a 0.5 x 0.5 m quadrat (Fig. 1). In each quadrat, every weed species was determined and the abundance of every species was recorded and expressed as a number of individuals per square meter. A maximum of 20 individuals per weed species were sampled for the measure of functional traits. Twenty crop individuals per plot were also randomly sampled in order to determine functional traits for each crops sampled.

Measure of functional traits of crops and weeds

The following functional traits were measured according to the recommendations of Cornelissen et al. (2003): vegetative height, lateral spread (LS), specific leaf area (SLA) and leaf dry matter content (LDMC). Vegetative height and the lateral spread represent a surrogate of the ability to compete for light or space with crops (Gaba et al. 2014, Perronne et al. 2014) and are proxy of plant competitive ability (Navas and Moreau-Richard, 2005). The most recently unfolded leave was collected, stored in deionized water and brought back to the lab for the measurement of the other functional traits

(Garnier et al., 2001). The fresh weight was determined after 24 h rehydration in deionized water in the dark. The dry weight was measured after 72 h drying at 60 °C. The leave surface was determined using a planimeter LI 3050 (LI-COR Biosciences, Lincoln, USA). SLA calculated as the ratio of leave area to leave dry mass and LDMC calculated as the ratio of leave dry mass over leave fresh mass are considered functional markers of plant resource acquisition strategy (Weiher et al., 1999).

Species and functional diversity calculations

The species diversity was estimated at the quadrat scale by species richness, species evenness and the Simpson dominance index (Simpson, 1949). The Shannon species evenness was calculated as the ratio of Shannon index (Shannon, 1948) of the observed community over the maximum theoretically possible Shannon index with the same number of species (Lloyd and Ghelardi, 1964).

The functional diversity was assessed independently for every trait at the quadrat scale, using one single trait value per individual. We focused on functional identity, richness, evenness and divergence as proposed by Mason et al. (2005). The functional identity was calculated as the average of the community traits values, i.e. as the Community Weighted Mean (CWM) (Garnier et al., 2004). Functional richness (FRic) was calculated as the difference between the highest and the lowest trait values in the community (Villegier et al. 2008). Functional evenness was evaluated with the FEve indice (Villegier et al., 2008), calculated with the function 'dbFD' in the 'FD' 1.0-11 package (Laliberté and Shipley, 2011). Functional divergence was evaluated with the FDvar indice (Mason et al., 2003), calculated with the software f-Diversity (Casanoves et al., 2010).

The overlap between weeds and crop functional niches was calculated for every trait at the plot scale, using one single trait value per individual, using the Niche Overlap index developed by Mouillot et al. (2005). Briefly, this index calculation consists in drawing two probability density functions, one for the crop and one for the weed community, representing the distribution of trait values using kernel density estimation (Stine and Heyse, 2001). The overlap of the two density functions is then estimated and expressed as a percentage of the density function area. This approach has been successfully used by Mason et al. (2011) to unravel "limiting similarity" and "habitat filtering" processes in prairial plant communities.

Statistical analysis

All the statistical analyses were conducted separately for the year 2011 (oilseed rape and pea) and the year 2012 (wheat after oilseed rape or pea) with the R 3.1.2 software (R Core Team, 2014).

All the examined variables were analyzed using a Kruskal-Wallis test with the crop species (oilseed rape or pea) as a factor for 2011 data and with the crop sequence (wheat after oilseed rape or wheat after oilseed pea) as a factor for 2012 data. The means were grouped using the `kruskalmc` function in the

pgirmess package v. 1.5.8 (Giraudoux, 2013) to allow for multiple comparisons. The dissimilarity of species composition between weed communities was assessed using non-metric dimensional scaling (NMDS) based on a Bray-Curtis distance matrix calculated on log-transformed species abundances. Distance matrix calculation and NMDS were realized with the vegan package 2.2-1 (Oksanen et al., 2015). The effects of the factors (crop or previous crop) on the species composition were evaluated using a Kruskal-Wallis test done on the individuals coordinates in the NMDS plane.

The functional identity of weed communities was assessed through principal component analysis (PCA) realized with community weighted means of the four functional traits. PCA was calculated with the FactoMineR package v1.28 (Lê et al., 2008).

Results

Taxonomic diversity and composition of weed community

Weed abundance varied according to crop and according to the previous crop in wheat (Figure 1). It was higher in pea (9.06 ± 0.96 individuals m^{-2}) than in oilseed rape (5.56 ± 0.69 individuals m^{-2}) ($\chi^2 = 8.03$, $p < 0.01$) in 2011 but higher in wheat following oilseed rape (26.14 ± 4.86 individuals m^{-2}) than in wheat following pea (10.48 ± 2.38 individuals m^{-2}) ($\chi^2 = 7.40$, $p < 0.01$).

The most abundant weed species in oilseed rape were *Sonchus asper* (L.) Hill (on average 6.36 individuals m^{-2}), *Chenopodium album* L. (5.92 individuals m^{-2}) and *Polygonum persicaria* L. (5.24 individuals m^{-2}). The most abundant weeds in pea were *Echinochloa crus-galli* (L.) P.Beauv. (25.6 individuals m^{-2}), *C. album* (4.00 individuals m^{-2}). The most abundant weeds in wheat following oilseed rape were *Hordeum vulgare* L. (73.5 individuals m^{-2}), *Alopecurus myosuroides* Huds. (9.04 individuals m^{-2}), *Chenopodium polyspermum* L. (5.48 individuals m^{-2}) and *Sonchus arvensis* L. (4.00 individuals m^{-2}). The most abundant weeds in wheat following pea were *E. crus-galli* (22.4 individuals m^{-2}) and *A. myosuroides* (7.40 individuals m^{-2}). All other species were less abundant than 1 individual per quadrat on average (see Appendix 1).

The weed community species composition was affected by the crop or by the previous crop, as assessed in a NMDS based on Bray-Curtis distance matrix (Figure 2). Oilseed rape weed communities and pea weed communities were segregated on the two first dimensions of the NMDS ($\chi^2=35.32$, $p<0.001$ on the first dimension; $\chi^2=10.82$, $p<0.01$ on the second dimension). Wheat weed communities were segregated according to the previous crop on the two first dimensions of the NMDS ($\chi^2=11.67$, $p<0.001$ on the first dimension; $\chi^2=10.52$, $p<0.01$ on the second dimension).

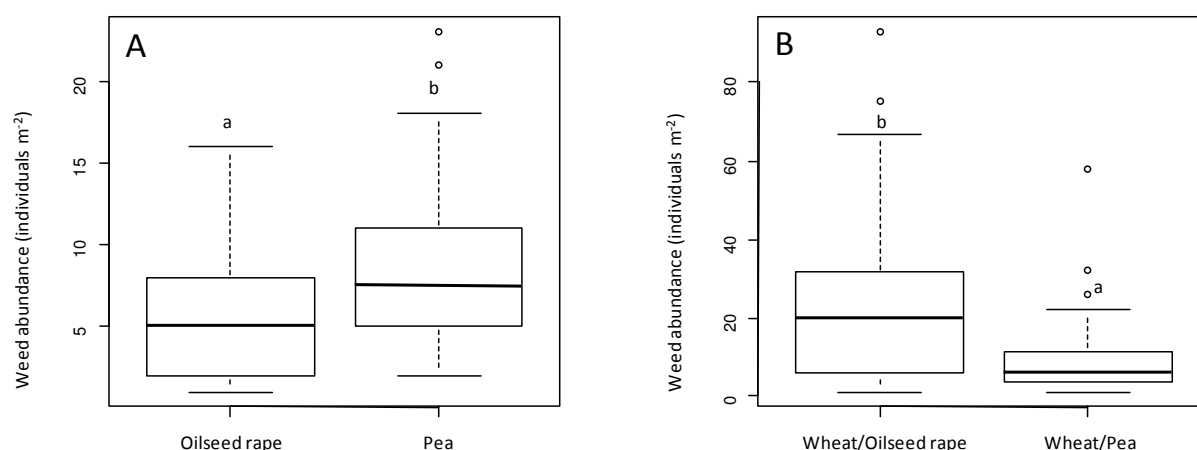


Figure 1 Boxplots of weed abundance in oilseed rape and pea in 2011 (A) and wheat according to rotation in 2012 (B). Values followed by different letters are significantly different at $p < 0.05$. Boxplots indicate median, interquartiles (25-75%), maximum, minimum and outliers.

However, the indices of species diversity (i.e. species richness, Shannon species evenness and Simpson dominance) did not vary according to the crop or the preceding crop ($p > 0.05$). Species richness, measured as the observed number of species per quadrat, was on average 2.73 ± 0.24 weeds in oilseed rape, 2.56 ± 0.17 in pea, 3.25 ± 0.36 in wheat following oilseed rape and 2.44 ± 0.28 in wheat following pea. Shannon species evenness was on average 0.88 ± 0.02 in oilseed rape, 0.75 ± 0.04 in pea, 0.68 ± 0.06 in wheat following oilseed rape and 0.76 ± 0.05 in wheat following pea. Simpson dominance was on average 0.56 ± 0.05 in oilseed rape, 0.61 ± 0.04 in pea, 0.63 ± 0.05 in wheat following oilseed rape and 0.69 ± 0.05 in wheat following pea.

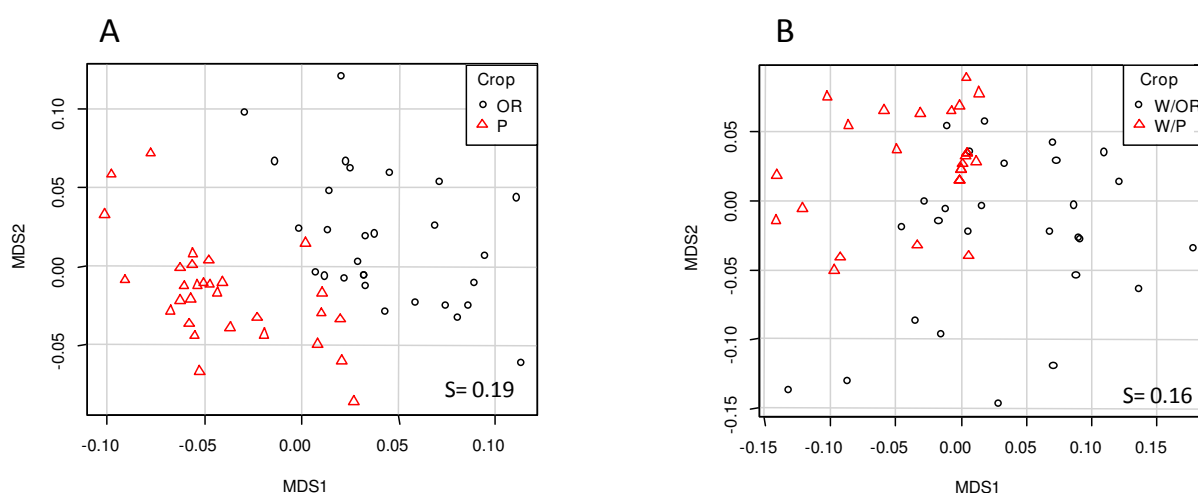


Figure 2 Non metric dimensional scaling of weed communities based on species composition, using a Bray-Curtis distance matrix, in oilseed rape and pea in 2011 (A) and in wheat in 2012 (B). Crop: OR, oilseed rape; P, pea; W/OR, wheat after oilseed rape; W/P, wheat after pea. S: stress

Functional diversity of the weed communities

Crops functional traits differed according to the crop species but not according to the previous crop (Table 1). Pea had a lower height and lateral spread than oilseed rape but a higher SLA and a higher LDMC. However, wheat functional traits were not impacted by the previous crop.

Table 1 Crops functional traits and weed communities' functional diversity indices in oilseed rape and pea in 2011 and wheat in 2012. Values are means±standard error. CWM: community weighted mean, FRic: functional richness, FEve: functional evenness, FDvar, functional divergence. Significance: n.s. = non significant at $P < 0.05$

	Oilseed rape	Pea		Wheat/Oilseed rape	Wheat/Pea	
<i>Crop functional traits</i>						
Lateral spread (cm)	66.95±2.11	33.70±0.92	*	15.54± 0.77	13.97±1.72	n.s.
Height (cm)	92.91±1.17	63.95 ±1.50	*	82.24 ±2.21	82.50±1.98	n.s.
SLA (m ² kg ⁻¹)	13.14±0.32	20.38 ±0.80	*	23.27± 0.77	22.63±0.89	n.s.
LDMC (mg g ⁻¹)	219.01±5.58	247.79± 4.85	*	251.90± 5.60	257.07±6.22	n.s.
<i>Weed communities diversity indices</i>						
<i>Functional identity</i>						
CWM Height (cm)	10.79±1.15	21.34 ±1.25	*	73.49 ±5.73	77.24±6.22	n.s.
CWM Lateral spread (cm)	7.60±0.64	14.76± 1.10	*	15.32± 1.08	21.48±1.98	*
CWM SLA (m ² kg ⁻¹)	34.92±1.52	47.29 ±2.47	*	35.56 ±1.69	44.11±3.60	n.s.
CWM LDMC (mg g ⁻¹)	204.64±12.64	167.73 ±4.17	*	191.03 ±7.45	203.73±10.15	n.s.
<i>Functional richness</i>						
FRic Height (cm)	16.10±3.42	36.90 ±2.83	*	62.00 ±6.48	56.87±8.55	n.s.
FRic Lateral spread (cm)	10.18±2.40	29.35± 2.86	*	20.05 ±2.36	22.72±3.54	n.s.
FRic SLA (m ² kg ⁻¹)	19.32±2.93	59.36± 20.42	*	26.95 ±4.21	48.34±13.91	n.s.
FRic LDMC (mg g ⁻¹)	122.26±19.33	104.40± 11.22	n.s.	105.13 ±31.11	147.20±31.11	n.s.
<i>Functional evenness</i>						
FEve Height	0.57±0.03	0.53± 0.02	n.s.	0.51 ±0.02	0.42±0.03	n.s.
FEve Lateral spread	0.55±0.04	0.44± 0.02	*	0.51 ±0.03	0.47±0.03	n.s.
FEve SLA	0.56±0.03	0.51± 0.03	n.s.	0.41 ±0.04	0.49±0.03	n.s.
FEve LDMC	0.45±0.03	0.50± 0.02	n.s.	0.45 ±0.04	0.48±0.03	n.s.
<i>Functional divergence</i>						
FDvar Height	0.48±0.05	0.68± 0.03	*	0.40 ±0.07	0.34±0.07	n.s.
FDvar Lateral spread	0.37±0.04	0.65± 0.02	*	0.47 ±0.05	0.45±0.06	n.s.
FDvar SLA	0.16±0.03	0.26± 0.03	*	0.22 ±0.04	0.26±0.04	n.s.
FDvar LDMC	0.15±0.02	0.16± 0.02	n.s.	0.15 ±0.03	0.22±0.05	n.s.

The functional identity of the weed community, evaluated by the weighted mean functional traits CWM, was strongly affected by the crop in 2011, as shown by PCA (Figure 3A). Precisely, weeds had higher height, lateral spread and SLA in pea crops than in oilseed rape crops, but lower LDMC (Table 1). However, the previous crop had no effects on the functional identity of the wheat weed community (Figure 3B). Functional traits community weighted means did not vary according to the previous crop, with the exception of the lateral spread, which was higher in the wheat following pea than in the wheat following oilseed rape (Table 1).

Other components of the functional diversity were less affected by the crops and previous crops than the functional identity (Table 1). Functional richness (FRic) was higher in the weed community of the pea than in the oilseed rape community for height, lateral spread and SLA but LDMC was unaffected by the crops. The functional richness of the wheat weed communities was unaffected by the previous crop. The functional evenness (FEve) of most of the traits was unaffected by crop or previous crop, with the exception of lateral spread values, which were more evenly distributed in the oilseed rape

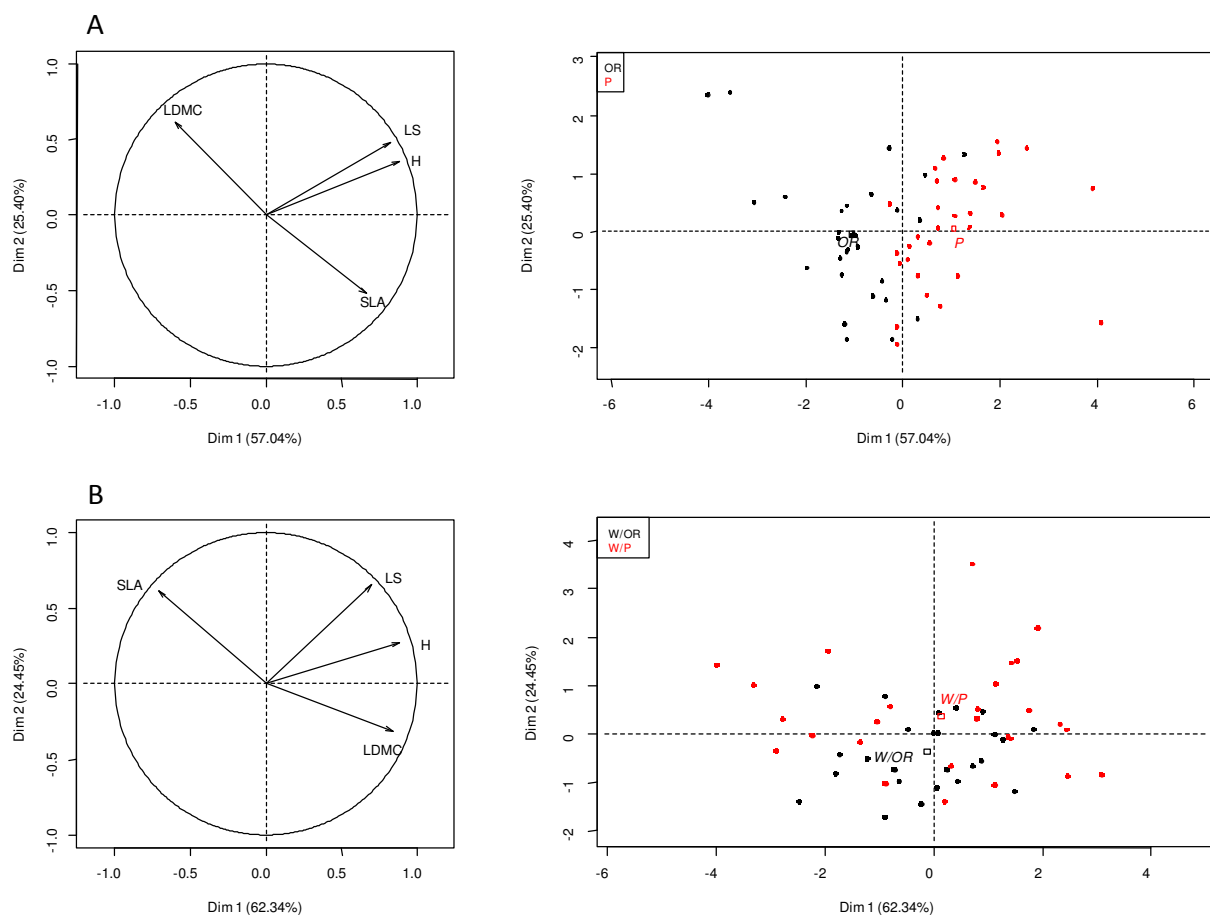


Figure 3 Principal component analysis (PCA) of weeds functional traits community weighted mean (CWM) with crop as supplementary factor. (A) Weed communities of oilseed rape and pea in 2011, (B) weed communities in wheat in 2012. Squares (■) represent the centroid of the crop species. Functional traits: H, height CWM; LS, lateral spread CWM; SLA, specific leaf area CWM; LDMC, leaf dry matter CWM content. Crops: OR, oilseed rape; P, pea; W/OR, wheat after oilseed rape; W/P, wheat after pea

than in the pea. The functional divergence (FDvar) presented a similar pattern to functional richness, with a higher divergence of height, lateral spread and SLA in the pea than in the oilseed rape weed community, while LDMC was unaffected by the crop. The divergence of the functional traits was unaffected by the previous crop in the weed community of the wheat.

Overlap between the weed and crop functional traits

Overlaps between the weeds and the crop traits ranged from 0.01 to 0.59 depending on the functional trait and crop (Figure 4). Overall, the 2012 wheat overlapped more with the weeds, with overlaps ranging from 0.20 to 0.59, than the pea or oilseed rape in 2011 (overlaps ranging from 0.01 to 0.46). Most of the weeds were smaller than the crop, and their overlap with the crop height depended on the crop. Pea overlapped more with the weeds than the oilseed rape and the wheat following oilseed rape overlapped more with the weeds than the wheat following pea. Lateral spread presented the same pattern, with crops having higher lateral spreads than most of the weeds. Pea overlapped more with the weeds lateral spread than oilseed rape and the overlap of wheat and weeds' lateral spread was unaffected by the previous crop. Crops tended to have lower SLA than weeds and pea overlapped more with weeds than oilseed rape while wheat overlap with weeds was unaffected by the previous crop. Crops tended to have LDMC higher than those of weeds, but the overlap between crops and weeds LDMC was not significantly different between pea and oilseed rape nor between wheat following pea or following oilseed rape.

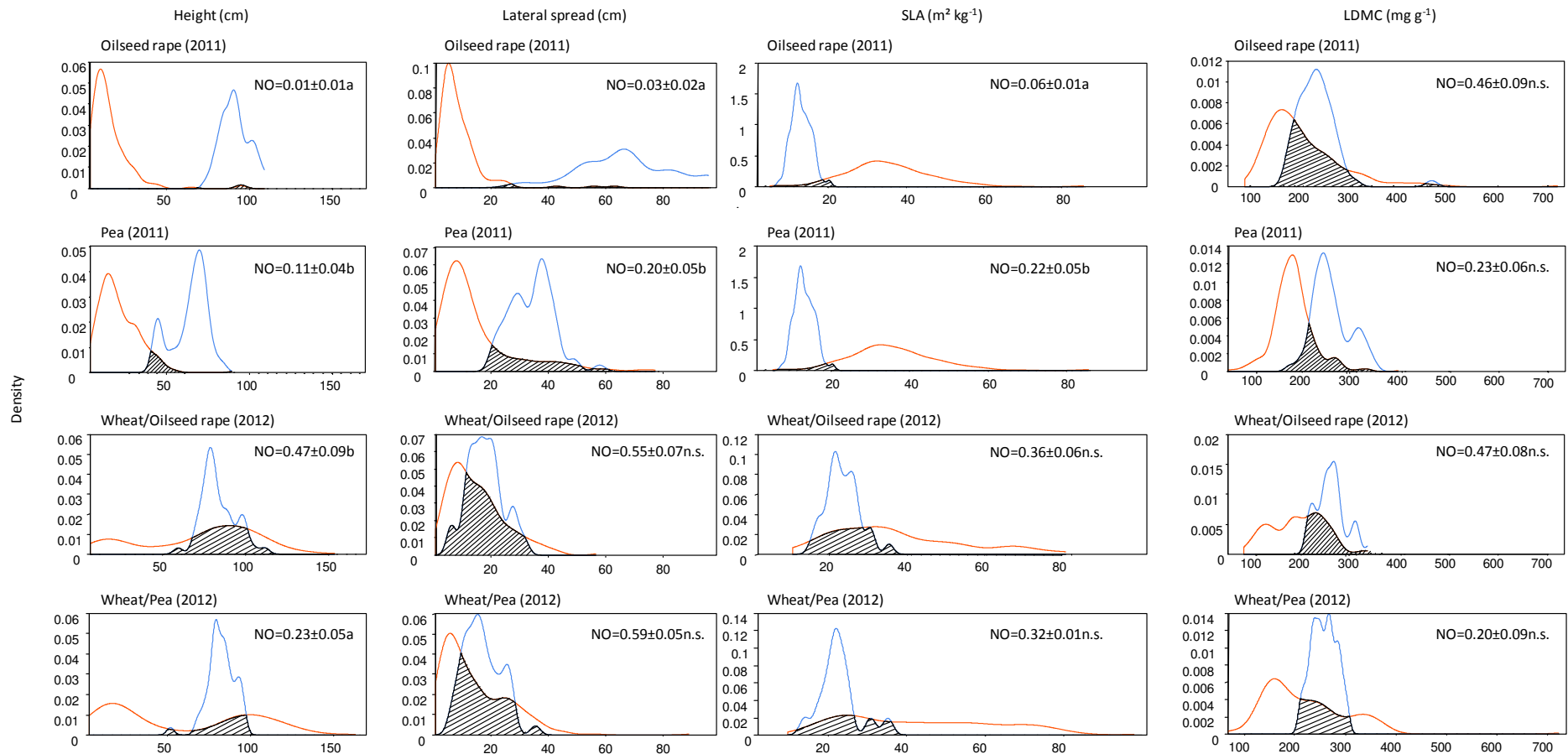


Figure 4 Overlap between density function representing crop functional traits (blue) and weeds functional traits (red). NO: niche overlap (mean of three replicates ± standard error). Niche overlaps followed by different letters in the same year and same functional trait are significantly different at $P < 0.05$

Discussion

Effect of oilseed rape and pea on weed communities

To our knowledge, there is no study comparing weed density in spring pea and winter oilseed rape but a higher biomass of weeds in pea compared to cereal has previously been reported in the literature (Deveikyte et al., 2009; Sarunaite et al., 2013). In our study, weeds were more abundant in pea plots than in oilseed rape. These results are usually attributed to a low height, lateral spread and biomass of the pea compared to cereal crops, resulting in a low competitive ability against weeds. This could also explain our observed pattern, as oilseed rape presents a higher height and lateral spread than pea, and its rosette architecture is considered as particularly competition-efficient by Gunton et al. (2011). Moreover, in their recent study, Tribouillois et al. (2015) have also highlighted the higher competitive ability of Brassicaceae in comparison with Fabaceae. Plants with higher height and lateral spread are considered to be more competitive (Navas et Fayolle, 2012; Violle et al., 2009; Deveikyte et al., 2008; Gerhold et al., 2013) for light. Nevertheless, the higher height and lateral spread of weeds in pea compared to oilseed rape could more likely be attributed to the higher amount of nitrogen available resources in pea than in oilseed rape. This result is supported by the ruderal character *sensu* Grime (1977) of Fabaceae highlighted by Tribouillois et al. (2015). Ruderal species, adapted to frequently disturbed environments, present higher SLA and lower LDMC compared to competitive species due to investment in leaves structures and high rate of resource acquisition, necessary to cope with perturbations (Westoby, 1998; Grime, 2001; Pierce et al. 2013). Furthermore, Perronne et al. (2014), studying intraspecific variability of traits in weeds, observed higher SLA in individuals growing in the field core, thus experiencing high disturbance rate, compared to individuals growing in the field edge. This is in accordance with the Leaf-Height-Seed scheme (Westoby, 1998) and experimental works that relate leaf traits to resource utilization rather than resource acquisition (Lavorel et Garnier, 2002). The higher SLA and lower LDMC of weeds growing in pea compared to weeds growing in oilseed rape could also be attributed to the spring sowing season and short life cycle of pea. The crops sowing season is known to be a major determinant of weed functional composition (Hallgren et al., 1999; Bohan et al., 2011; Fried et al., 2008, 2012) and a spring sowing season is likely to favor spring germinating weeds with a short life-cycle, thus well adapted to disturbed environment

Other components of functional diversity were also impacted by the crop. Pea weed communities had larger functional richness and divergence for all traits except LDMC. The higher richness of weed functional traits in pea could be attributed to the greater number of available niches in pea compared to oilseed rape due to the low competitive pressure exerted by pea. Many growth and architecture strategies could be successful in pea while the oilseed rape pressure should allow only some strategies

to be successful. The higher functional divergence of pea weeds traits could be linked to their higher richness. The coexistence of different ecological strategies in pea weeds, with a mixture of, for example, low height shade tolerant species, high height competitive species and high SLA ruderal species leads to a higher overlap with pea crop. Indeed, the overlap between the crop and the weeds functional traits was higher for pea than for oilseed rape, for all traits except LDMC. This could be attributed to the higher functional diversity of the pea crop. Pea, being smaller and having a lower lateral spread than oilseed rape, created a low pressure for limiting similarity between crop and weeds, thus increasing the probability of functional overlap. Contrary to our hypothesis, the pea weeds presented a more competitive phenotype than oilseed rape weeds and overlapped more with pea, resulting in a potentially more competitive weed flora in pea than in oilseed rape

Effect of the previous crop on weed communities in wheat

Interestingly, despite having previous crop with different nutrient requirements (Taureau et al., 1987), thus potentially resulting in different soil nutrient availability (Churka Blum et al., 2013), no differences in the four wheat functional traits was observed due to the previous crop.

Despite higher weed abundance in pea than in oilseed rape, wheat following pea had less weeds per square meter than wheat following oilseed rape. This can be attributed to the phenology of the pea, which was sown in spring in a rotation previously composed of winter crops, disrupting the winter weeds cycle. It was previously shown by several studies that a winter crop following a spring pea presents a lower weed abundance compared to a winter crop following a winter crop (Stevenson et van Kessel, 1996; Chauvel et al., 2001; Colbach et al., 2010). In the condition of our experimentation, the wheat crop sampled was in fact, spring wheat. Nevertheless, a winter wheat crop had been established previously in autumn and be destroyed by deep freeze in winter, before the sowing of spring wheat. Thus, the weed community experienced the autumn disturbance due to tillage and the subsequent autumn competition between crops and weeds as well as any winter crop weed community, which could explain the observed result. Weed communities in wheat following pea or oilseed rape had different species composition. Nevertheless, they presented no differences of functional diversity (with the exception of the lateral spread community weighted mean). We could attribute this discrepancy between functional composition and species composition to the strong filter effect exerted by the crop on the weeds which lead to traits convergence, due either to weed phenotypic plasticity (Perronne et al., 2014) or species turnover. This filter could be particularly important in cereal crops which, compared for example to pea, produce a high amount of biomass,

tillers and root length, as well as presenting a higher height (this study), thus exerting a strong competition for light and nutrients on weeds (Corre-Hellou et al., 2011).

This functional diversity similarity in the presence of dissimilar weeds communities could be interpreted in the light of competition theory as an evidence of a competitive hierarchy acting on species niches instead of limiting similarity. Competitive hierarchy postulate that only species with a specific set of traits can cope with competition, leading to trait convergence (Navas and Fayolle, 2012; Kunstler et al., 2012; Fort et al., 2014). This phenomenon has already been observed in weed communities by Gunton et al. (2011) who observed that weed communities of more competitive crops occupied narrower functional niches. As a result of this near absence of functional dissimilarity of weeds between crops, the overlap between crops and weeds functional traits was not influenced by the previous crop, except for the height which presented a lower functional overlap with the wheat following pea. Thus, based on the four traits we studied, we can reject the hypothesis that previous pea creates a weed community with a higher diversity of functional niches (compared to previous oilseed rape), and with functional niches dissimilar from the functional niche of wheat. Nevertheless, despite similar functional niches, weed communities in wheat after pea are far less abundant than in wheat after oilseed rape. This should ultimately reduce the crop-weed competition in wheat after pea compared to wheat after oilseed rape. Further work is needed to assess the cause of functional similarity between the two wheat weed communities, i.e. if the convergence is due to intense pressure phenotypic plasticity or to a species turnover.

References

- Belyea, L.R., Lancaster, J., 1999. Assembly rules within a contingent ecology. *OIKOS* 86, 402–416. doi:10.2307/3546646
- Bernard-Verdier, M., Navas, M.-L., Vellend, M., Violle, C., Fayolle, A., Garnier, E., 2012. Community assembly along a soil depth gradient: contrasting patterns of plant trait convergence and divergence in a Mediterranean rangeland. *Journal of Ecology* 100, 1422–1433. doi:10.1111/1365-2745.12003
- Bohan, D.A., Powers, S.J., Champion, G., Haughton, A.J., Hawes, C., Squire, G., Cussans, J., Mertens, S.K., 2011. Modelling rotations: can crop sequences explain arable weed seedbank abundance? *Weed Research* 51, 422–432. doi:10.1111/j.1365-3180.2011.00860.x
- Carboni, M., Acosta, A.T.R., Ricotta, C., 2013. Are differences in functional diversity among plant communities on Mediterranean coastal dunes driven by their phylogenetic history? *Journal of Vegetation Science* 24, 932–941. doi:10.1111/jvs.12095
- Casanoves, F., Di Rienzo, J.A., Pla, L., 2011. FDiversity: a software package for the integrated analysis of functional diversity. *Methods in Ecology and Evolution* 2, 233–237. doi:10.1111/j.2041-210X.2010.00082.x

-
- Caton, B.P., Mortimer, A.M., Foin, T.C., Hill, J.E., Gibson, K.D., Fischer, A.J., 2001. Weed shoot morphology effects on competitiveness for light in direct-seeded rice. *Weed Research* 41, 155–163. doi:10.1046/j.1365-3180.2001.00228.x
- Chauvel, B., Guillemin, J.P., Colbach, N., Gasquez, J., 2001. Evaluation of cropping systems for management of herbicide-resistant populations of blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.). *Crop Protection* 20, 127–137. doi:10.1016/S0261-2194(00)00065-X
- Churka Blum, S., Lehmann, J., Solomon, D., Caires, E.F., Alleoni, L.R.F., 2013. Sulfur forms in organic substrates affecting S mineralization in soil. *Geoderma* 200–201, 156–164. doi:10.1016/j.geoderma.2013.02.003
- Colbach, N., Granger, S., Guyot, S.H.M., Mézière, D., 2014. A trait-based approach to explain weed species response to agricultural practices in a simulation study with a cropping system model. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 183, 197–204. doi:10.1016/j.agee.2013.11.013
- Colbach, N., Schneider, A., Ballot, R., Vivier, C., 2010. Diversifying cereal-based rotations to improve weed control. Evaluation with the AlomySys model quantifying the effect of cropping systems on a grass weed. *OCL - Oleagineux Corps Gras Lipides* 17, 292–300. doi:10.1684/ocl.2010.0331
- Cornelissen, J.H.C., Lavorel, S., Garnier, E., Díaz, S., Buchmann, N., Gurvich, D.E., Reich, P.B., Steege, H., Morgan, H.D., Van Der Heijden, M.G.A., Pausas, J.G., Poorter, H., 2003. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* 51, 335–380.
- Corre-Hellou, G., Dibet, a., Hauggaard-Nielsen, H., Crozat, Y., Gooding, M., Ambus, P., Dahlmann, C., von Fragstein, P., Pristeri, a., Monti, M., Jensen, E.S., 2011. The competitive ability of pea-barley intercrops against weeds and the interactions with crop productivity and soil N availability. *Field Crops Research* 122, 264–272. doi:10.1016/j.fcr.2011.04.004
- De Bello, F., Price, J.N., Muenkemueller, T., Liira, J., Zobel, M., Thuiller, W., Gerhold, P., Goetzenberger, L., Lavergne, S., Leps, J., Zobel, K., Paertel, M., 2012. Functional species pool framework to test for biotic effects on community assembly. *ECOLOGY* 93, 2263–2273.
- Den Hollander, N.G., Bastiaans, L., Kropff, M.J., 2007. Clover as a cover crop for weed suppression in an intercropping design. II. Competitive ability of several clover species. *European Journal of Agronomy* 26, 104–112. doi:10.1016/j.eja.2006.08.005
- Deveikyte, I., Kadziulienė, Z., Sarunaite, L., 2009. Weed suppression ability of spring cereal crops and peas in pure and mixed stands. *Agronomy Research* 7, 239–244.
- Deveikyte, I., Semaskiene, R., Leistrumaitė, A., 2008. The Competition Between Cereals And Weeds Under The Conditions Of Organic Agriculture. *Zemdirbyste-Agriculture* 95, 3–15.
- Dingkuhn, M., Johnson, D.E., Sow, A., Audebert, A.Y., 1999. Relationships between upland rice canopy characteristics and weed competitiveness. *Field Crops Research* 61, 79–95. doi:10.1016/S0378-4290(98)00152-X
- Fort, F., Cruz, P., Jouany, C., 2014. Hierarchy of root functional trait values and plasticity drive early-stage competition for water and phosphorus among grasses. *Functional Ecology* 28, 1030–1040. doi:10.1111/1365-2435.12217
- Freckleton, R.P., Watkinson, A.R., 1999. Freckleton, R.P., Watkinson, A.R., Rees, M., 2009. The mis-measurement of plant competition. *Functional Ecology* 13, 285–287
- Freckleton, R.P., Watkinson, A.R., Rees, M., 2009. Measuring the importance of competition in plant communities: Forum. *Journal of Ecology* 97, 379–384. doi:10.1111/j.1365-2745.2009.01497.x
- Fried, G., Chauvel, B., Reboud, X., 2015. Weed flora shifts and specialisation in winter oilseed rape in France. *Weed Research* 55, 514–524. doi:10.1111/wre.12164
- Fried, G., Chauvel, B., Reboud, X., 2009. A functional analysis of large-scale temporal shifts from 1970 to 2000 in weed assemblages of sunflower crops in France. *Journal of Vegetation Science* 20, 49–58. doi:10.3170/2008-8-18465

- Fried, G., Kazakou, E., Gaba, S., 2012. Trajectories of weed communities explained by traits associated with species' response to management practices. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 158, 147–155. doi:10.1016/j.agee.2012.06.005
- Fried, G., Norton, L.R., Reboud, X., 2008. Environmental and management factors determining weed species composition and diversity in France. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 128, 68–76. doi:10.1016/j.agee.2008.05.003
- Gaba, S., Fried, G., Kazakou, E., Chauvel, B., Navas, M.L., 2014. Agroecological weed control using a functional approach: A review of cropping systems diversity. *Agronomy for Sustainable Development* 34, 103–119. doi:10.1007/s13593-013-0166-5
- Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M.-L., Roumet, C., Debussche, M., Laurent, G., Blanchard, A., Aubry, D., Bellmann, A., Neill, C., Toussaint, J.-P., 2004. Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology* 85, 2630–2637.
- Garnier, E., Navas, M., 2012. A trait-based approach to comparative functional plant ecology: concepts, methods and applications for agroecology. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 32, 365–399. doi:10.1007/s13593-011-0036-y
- Garnier, E., Shipley, B., Roumet, C., Laurent, G., 2001. A standardized protocol for the determination of specific leaf area and leaf dry matter content. *Functional Ecology* 15, 688–695. doi:10.1046/j.0269-8463.2001.00563.x
- Gerhold, P., Price, J.N., Püssa, K., Kalamees, R., Aher, K., Kaasik, A., Pärtel, M., 2013. Functional and phylogenetic community assembly linked to changes in species diversity in a long-term resource manipulation experiment. *Journal of Vegetation Science* 24, 843–852. doi:10.1111/jvs.12052
- Giraudeau, P., 2013. *pgirmess: Data analysis in ecology*. R package version 1.5.8.
- Grime, J.P., 2006. Trait convergence and trait divergence in herbaceous plant communities: Mechanisms and consequences. *Journal of Vegetation Science* 17, 255–260. doi:10.1111/j.1654-1103.2006.tb02444.x
- Grime, J.P., 2001. *Plant strategies, vegetation processes, and ecosystem properties*. John Wiley and Sons Ltd, Chichester, UK.
- Grime, J.P., 1977. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. *The American Naturalist* 111, 1169–1194.
- Gunton, R.M., Petit, S., Gaba, S., 2011. Functional traits relating arable weed communities to crop characteristics. *Journal of Vegetation Science* 22, 541–550. doi:10.1111/j.1654-1103.2011.01273.x
- Hallgren, E., Palmer, M.W., Milberg, P.E.R., 1999. Data diving with cross-validation : an investigation of broad-scale gradients in Swedish weed communities. *Journal of Ecology* 87, 1037–1051.
- Hernández Plaza, E., Navarrete, L., González-Andújar, J.L., 2015. Intensity of soil disturbance shapes response trait diversity of weed communities: The long-term effects of different tillage systems. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 207, 101–108. doi:10.1016/j.agee.2015.03.031
- Hutchinson, G.E., 1957. Concluding remarks, in: *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. pp. 415–427.
- Kearney, M., Simpson, S.J., Raubenheimer, D., Helmuth, B., 2010. Modelling the ecological niche from functional traits. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 365, 3469–3483. doi:10.1098/rstb.2010.0034
- Kunstler, G., Lavergne, S., Courbaud, B., Thuiller, W., Vieilledent, G., Zimmermann, N.E., Kattge, J., Coomes, D.A., 2012. Competitive interactions between forest trees are driven by species' trait hierarchy, not phylogenetic or functional similarity: Implications for forest community assembly. *Ecology Letters* 15, 831–840. doi:10.1111/j.1461-0248.2012.01803.x
- Lavorel, S., Garnier, E., 2002. Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: Revisiting the Holy Grail. *Functional Ecology* 16, 545–556
- Laliberté, E., Shipley, B., 2011. Package “FD.”

-
- Lê, S., Josse, J., Husson, F., 2008. FactoMineR: an R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software* 25, 1–17.
- Lloyd, M., Ghelardi, R., 1964. A Table for calculating the equitability component of species diversity. *The Journal of Animal Ecology* 33, 217–225.
- Mason, N.W.H., Bello, F. De, Dolezal, J., Leps, J., 2011. Niche overlap reveals the effects of competition, disturbance and contrasting assembly processes in experimental grassland communities. *Journal of Ecology* 99, 788–796. doi:10.1111/j.1365-2745.2011.01801.x
- Mason, N.W.H., Mouillot, D., Lee, W.G., Wilson, J.B., 2005. Functional richness, functional evenness and functional divergence: the primary components of functional diversity. *Oikos* 111, 112–118.
- Mason, W.H.N., MacGillivray, K., Steel, J.B., Wilson, J.B., 2003. An index of functional diversity. *Journal of Vegetation Science* 14, 571–578. doi:10.1111/j.1654-1103.2003.tb02184.x
- May, F., Giladi, I., Ristow, M., Ziv, Y., Jeltsch, F., 2013. Plant functional traits and community assembly along interacting gradients of productivity and fragmentation. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 15, 304–318. doi:10.1016/j.ppees.2013.08.002
- McGill, B.J., Enquist, B.J., Weiher, E., Westoby, M., 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology and Evolution* 21, 178–185. doi:10.1016/j.tree.2006.02.002
- Mouillot, D., Stubbs, W., Faure, M., Dumay, O., Tomasini, J.A., Wilson, J.B., Chi, T.D., 2005. Niche overlap estimates based on quantitative functional traits: a new family of non-parametric indices. *Oecologia* 145, 345–353. doi:10.1007/s00442-005-0151-z
- Navas, M.-L., Fayolle, A., 2012. Competition depends more on the functional structure of plant community than on standing biomass. *Community Ecology* 13, 21–29. doi:10.1556/ComEc.13.2012.1.3
- Navas, M.-L., Moreau-Richard, J., 2005. Can traits predict the competitive response of herbaceous Mediterranean species? *Acta Oecologica* 27, 107–114. doi:10.1016/j.actao.2004.10.002
- Navas, M.-L., Violle, C., 2009. Plant traits related to competition: how do they shape the functional diversity of communities? *Community Ecology* 10, 131–137. doi:10.1556/ComEc.10.2009.1.15
- Oksanen, A.J., Blanchet, F.G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P.R., Hara, R.B.O., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H., Wagner, H., 2015. Package “vegan”.
- Pakeman, R.J., Lennon, J.J., Brooker, R.W., 2011. Trait assembly in plant assemblages and its modulation by productivity and disturbance. *Oecologia* 167, 209–18. doi:10.1007/s00442-011-1980-6
- Perronne, R., Gaba, S., Cadet, E., Le Corre, V., 2014. The interspecific and intraspecific variation of functional traits in weeds: diversified ecological strategies within arable fields. *Acta Botanica Gallica* 161, 243–252. doi:10.1080/12538078.2013.868320
- Petit, S., Fried, G., 2012. Patterns of weed co-occurrence at the field and landscape level. *Journal of Vegetation Science* 23, 1137–1147. doi:10.1111/j.1654-1103.2012.01421.x
- Pierce, S., Brusa, G., Vagge, I., Cerabolini, B.E.L., 2013. Allocating CSR plant functional types: the use of leaf economics and size traits to classify woody and herbaceous vascular plants. *Functional Ecology* 27, 1002–1010. doi:10.1111/1365-2435.12095
- Price, J.N., Gazol, A., Tamme, R., Hiiesalu, I., Pärtel, M., 2014. The functional assembly of experimental grasslands in relation to fertility and resource heterogeneity. *Functional Ecology* 28, 509–519. doi:10.1111/1365-2435.12186
- Rosenfeld, J.S., 2002. Functional redundancy in ecology and conservation. *Oikos* 98, 156–162.
- Šarūnaitė, L., Deveikytė, I., Arlauskienė, A., Kadžiulienė, Ž., Maiksetienė, S., 2013. Pea and spring cereal intercropping systems : Advantages and suppression of broad-leaved weeds. *Polish Journal of Environmental Studies* 22, 541–551.
- Schwilk, D.W., Ackerly, D.D., 2005. Limiting similarity and functional diversity along environmental gradients. *Ecology Letters* 8, 272–281. doi:10.1111/j.1461-0248.2004.00720.x

- Shannon, C.E., 1948. A mathematical theory of communication. *The Bell System Technical Journal* 27, 379–423, 623–656.
- Silvertown, J., 2004. Plant coexistence and the niche. *Trends in Ecology and Evolution* 19, 605–611. doi:10.1016/j.tree.2004.09.003
- Simpson, E.H., 1949. Measurement of Diversity. *Nature* 163, 688.
- Singh, V., Singh, H., 2012. Leaf construction cost and related ecophysiological parameters of rice crop and its important weeds. *Rice Science* 19, 233–240. doi:10.1016/S1672-6308(12)60045-6
- Smith, R.G., Mortensen, D.A., Ryan, M.R., 2009. A new hypothesis for the functional role of diversity in mediating resource pools and weed – crop competition in agroecosystems. *Weed Research* 50, 37–48. doi:10.1111/j.1365-3180.2009.00745.x
- Stevenson, F.C., van Kessel, C., 1996. A landscape-scale assessment of the nitrogen and non-nitrogen benefits of pea in a crop rotation. *Soil Science Society of America Journal* 60, 1797–1805.
- Stine, R. a., Heyse, J.F., 2001. Non-parametric estimates of overlap. *Statistics in Medicine* 20, 215–236. doi:10.1002/1097-0258(20010130)20:2<215::AID-SIM642>3.0.CO;2-X
- Storkey, J., 2006. A functional group approach to the management of UK arable weeds to support biological diversity. *Weed Research* 46, 513–522. doi:doi:10.1111/j.1365-3180.2006.00528.x
- Storkey, J., Holst, N., Bøjer, O.Q., Bigongiali, F., Bocci, G., Colbach, N., Dorner, Z., Riemens, M.M., Sartorato, I., Sønderskov, M., Verschwele, A., 2014. Combining a weed traits database with a population dynamics model predicts shifts in weed communities. *Weed Research* 55, 206–218. doi:10.1111/wre.12126
- Tanaka, R., Koike, F., 2011. Prediction of species composition of plant communities in a rural landscape based on species traits. *Ecological Research* 26, 27–36. doi:10.1007/s11284-010-0749-4
- Taureau, J.C., Thevenet, G., Bordeaux, J.L., Defroberville, G., 1987. Réponses des cultures à la fertilisation soufrée, une méthode d'approche : le cas du blé d'hiver en terres de Groie étudié en 1986. *Perspectives Agricoles* 23–43.
- Tribouillois, H., Florian, F., Cruz, P., Charles, R., Flores, O., Garnier, E., Justes, E., 2015. A functional characterisation of a wide range of cover crop species: growth and nitrogen acquisition rates, leaf traits and ecological strategies. *Plos ONE* 1–17. doi:10.1371/journal.pone.0122156
- Ulrich, W., Soliveres, S., Maestre, F.T., Gotelli, N.J., Quero, J.L., Delgado-Baquerizo, M., Bowker, M. a., Eldridge, D.J., Ochoa, V., Gozalo, B., Valencia, E., Berdugo, M., Escolar, C., García-Gómez, M., Escudero, A., Prina, A., Alfonso, G., Arredondo, T., Bran, D., Cabrera, O., Cea, A.P., Chaieb, M., Contreras, J., Derak, M., Espinosa, C.I., Florentino, A., Gaitán, J., Muro, V.G., Ghiloufi, W., Gómez-González, S., Gutiérrez, J.R., Hernández, R.M., Huber-Sannwald, E., Jankju, M., Mau, R.L., Hughes, F.M., Miriti, M., Monerris, J., Muchane, M., Naseri, K., Pucheta, E., Ramírez-Collantes, D. a., Raveh, E., Romão, R.L., Torres-Díaz, C., Val, J., Veiga, J.P., Wang, D., Yuan, X., Zaady, E., 2014. Climate and soil attributes determine plant species turnover in global drylands. *Journal of Biogeography* 41, 2307–2319. doi:10.1111/jbi.12377
- Vandermeer, J.H., 1972. Niche Theory. *Annual Review of Ecology and Systematics* 3, 107–132.
- Villéger, S., Mason, N.W.H., Mouillot, D., 2008. New Multidimensional Functional Diversity Indices For A Multifaceted Framework In Functional Ecology. *Ecology* 89, 2290–2301.
- Violle, C., Garnier, E., Lecoœur, J., Roumet, C., Pothier, C., Blanchard, A., Navas, M.-L., 2009. Competition, traits and resource depletion in plant communities. *Oecologia* 160, 747–755. doi:10.1007/s00442-009-1333-x
- Violle, C., Navas, M., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., Garnier, E., 2007. Let the concept of trait be functional ! *Oikos* 116, 882–892. doi:10.1111/j.2007.0030-1299.15559.x
- Weiher, E., Freund, D., Bunton, T., Stefanski, A., Lee, T., Bentivenga, S., 2011. Advances, challenges and a developing synthesis of ecological community assembly theory. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 366, 2403–13. doi:10.1098/rstb.2011.0056
- Weiher, E., Werf, A. Van Der, Thompson, K., Roderick, M., Garnier, E., Werf, V. Der, 1999. Challenging Theophrastus : A common core list of plant traits for functional ecology. *Journal of Vegetation Science* 10, 609–620. doi:10.2307/3237076

-
- Westoby, M., 1998. A leaf-height-seed (LHS) plant ecology strategy scheme. *Plant and Soil* 199, 213–227.
- Yates, F., 1954. The Analysis of Experiments Containing Different Crop Rotations. *Biometrics* 10, 324–346.

Résumé du Chapitre 4

Les résultats de l'expérimentation en plein champ ont permis (i) d'étudier l'effet de différentes cultures (colza, orge, pois) sur les communautés microbiennes du sol et d'adventices au cours de leur développement et sous la culture suivante (blé), (ii) d'appréhender l'importance de la variabilité climatique interannuelle dans le déterminisme des variables microbiennes.

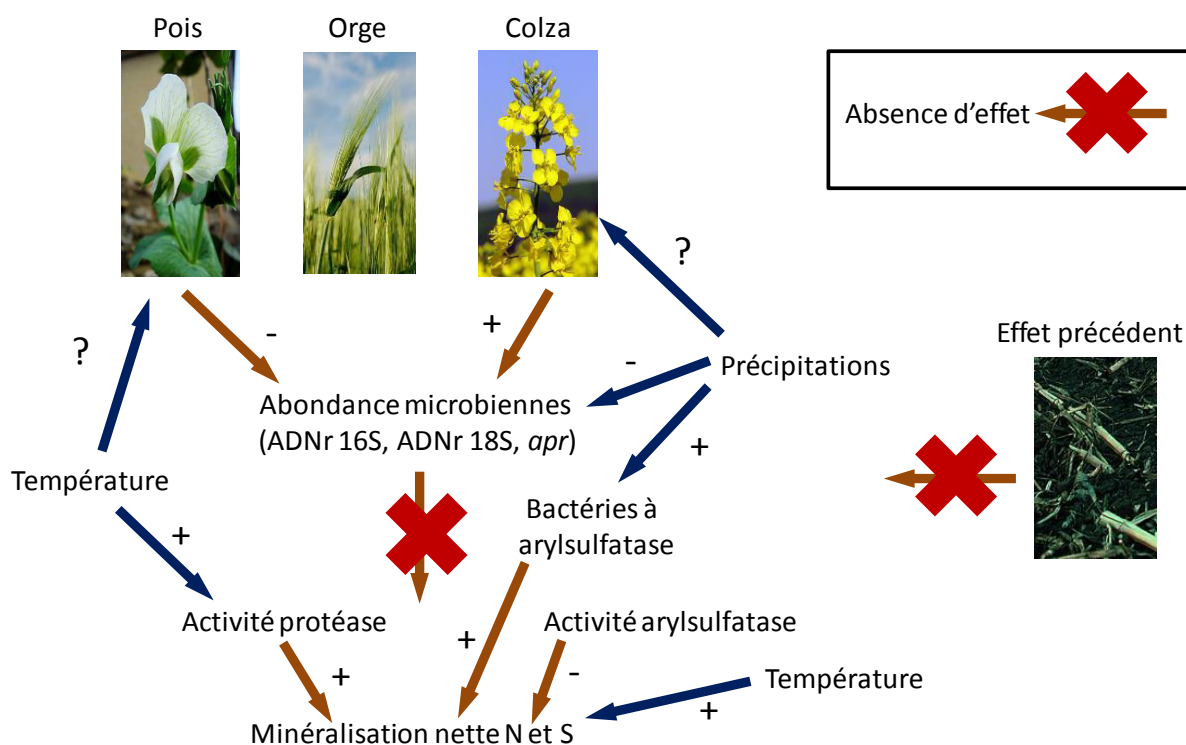


Figure 1 Effets des plantes cultivées et du climat sur les communautés microbiennes observés au champ

En plein champ, les plantes cultivées entraînent des modifications plus ou moins marquées d'abondance des communautés microbiennes en fonction de leurs caractéristiques écophysiologiques (durée de cycle de développement, stratégies d'allocation du carbone, quantité et nature des rhizodépôts, exigences en nutriments...) (Figure 1). Par des approches moléculaires ciblées sur les communautés microbiennes totales, nous avons ainsi mis en évidence des abondances de champignons et de bactéries supérieures sous le colza comparativement au pois, l'orge occupant une position intermédiaire. Cette influence significative du colza est également observée sur la communauté bactérienne portant le gène de la métalloprotéase alcaline. Ces différences d'abondances peuvent être attribuées à des différences de quantité et de qualité des rhizodépôts et

des résidus racinaires, le colza produisant de grandes quantités de biomasses racinaires tandis que le pois présente des rhizodépôts et des racines à faible C/N (Swinnen 1994 ; Mayer et al., 2003 ; Gan et al., 2009 ; Wichern et al., 2007a,b ; Arcand et al., 2013). Néanmoins, ces différences d'abondances microbiennes n'entraînent pas de différences significatives des activités protéase et arylsulfatase entre les cultures suggérant que la taille de la biomasse microbienne n'est pas le déterminant majeur de l'activité.

Si l'abondance des communautés microbiennes est significativement influencée par l'espèce cultivée, aucune influence du précédent cultural n'a pu être mise en évidence en comparant des successions culturales différentes. Ainsi les variables microbiennes (abondance et activité) mesurées sous couverts de blé précédés par des cultures de colza ou de pois sont identiques. En revanche, des différences de richesse et de composition taxonomique ont été mises en évidence suggérant un découplage entre l'abondance, la composition et les fonctions réalisées par les communautés microbiennes. L'absence d'effet significatif des plantes sur les activités enzymatiques au cours de leur développement ainsi que l'absence d'effet de la culture précédente sur les communautés microbiennes est en contradiction avec les observations en microcosme. Ces absences d'effet peuvent être liées à la variabilité climatique interannuelle (Figure 1). En effet, dans notre expérimentation, les conditions climatiques constituent un déterminant important des abondances microbiennes et des activités enzymatiques. Les abondances microbiennes sont négativement corrélées aux précipitations tandis que les activités enzymatiques sont positivement corrélées à la température. En conséquence, la prédiction des flux de minéralisation nette d'azote et de soufre en fin de cycle de développement de la culture est probablement plus déterminée par le climat de l'année que par les caractéristiques de la plante cultivée.

L'effet des cultures (pois et colza) sur l'abondance et la diversité fonctionnelle des adventices est fort, le pois présentant une communauté d'adventices plus abondante que le colza mais également plus diversifiée fonctionnellement, avec des individus de plus grande taille et de plus grande largeur que dans la communauté d'adventices du colza. Cet effet est probablement dû à la faible compétitivité du pois (Deveikyte et al., 2009 ; Sarunaite et al., 2013). Les adventices du pois ont également un SLA plus fort et un LDMC plus faible que les adventices du colza, ce qui peut être lié à une communauté d'adventices plus rudérale en raison de la date de semis tardive du pois. En conséquence, les distributions des valeurs de traits fonctionnels du pois et de ses adventices sont plus fortement chevauchantes que ce qui est observé entre le colza et ses adventices (Figure 2).

Ces différences dans la composition fonctionnelle des communautés d'adventices du pois et du colza sont peut-être responsables des différences taxonomiques observées entre les communautés

d'adventices du blé faisant suite au pois et du blé faisant suite au colza. Cependant, ces deux communautés d'adventices n'étaient pas différentes fonctionnellement. Il apparaît donc que l'identité de la culture constitue un filtre très important des traits fonctionnels des adventices, capables de rendre fonctionnellement similaires deux communautés taxonomiquement différentes. Cet effet peut être attribué à la grande plasticité phénotypique des adventices (Perronne et al., 2014).

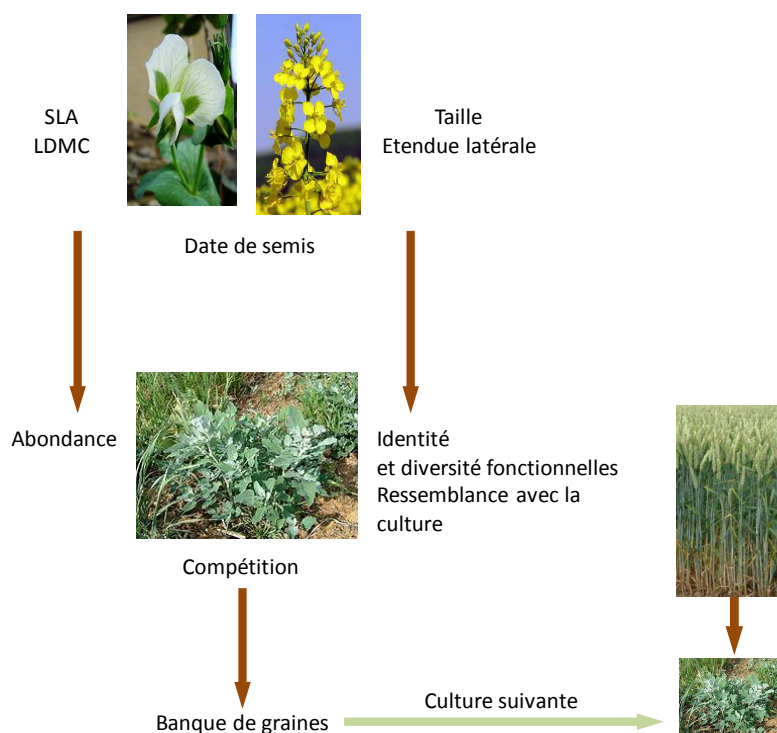


Figure 2 Effets du pois et du colza sur les communautés d'adventices observés au champ pendant et après leur cycle de développement

En résumé, contrairement aux résultats obtenus en microcosmes (pour les communautés microbiennes), les plantes cultivées en conditions naturelles, modifient les communautés microbiennes et adventices pendant leur cycle de développement. Néanmoins, cet effet s'estompe sous la culture suivante en raison des effets exercés par les pratiques culturales, la culture implantée et surtout par les facteurs climatiques de l'année.

Références

- Arcand, M.M., Knight, J.D., Farrell, R.E., 2013. Estimating belowground nitrogen inputs of pea and canola and their contribution to soil inorganic N pools using ¹⁵N labeling. *Plant and Soil* 371, 67–80. doi:10.1007/s11104-013-1626-z
- Deveikyte, I., Kadziulienė, Z., Sarunaite, L., 2009. Weed suppression ability of spring cereal crops and peas in pure and mixed stands. *Agronomy Research* 7, 239–244.
- Gan, Y.T., Campbell, C. a, Janzen, H.H., Lemke, R., Liu, L.P., Basnyat, P., McDonald, C.L., 2009. Root mass for oilseed and pulse crops: Growth and distribution in the soil profile. *Canadian Journal of Plant Science* 89, 883–893. doi:10.4141/CJPS08154
- Mayer, J., Buegger, F., Steen, E.S., Schloter, M., Heß, J., 2003. Estimating N rhizodeposition of grain legumes using a in situ stem labelling method. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 21–28.
- Perronne, R., Gaba, S., Cadet, E., Le Corre, V., 2014. The interspecific and intraspecific variation of functional traits in weeds: diversified ecological strategies within arable fields. *Acta Botanica Gallica* 161, 243–252. doi:Doi 10.1080/12538078.2013.868320
- Šarūnaitė, L., Deveikytė, I., Arlauskienė, A., Kadžiulienė, Ž., Maiksetienė, S., 2013. Pea and spring cereal intercropping systems : Advantages and suppression of broad-leaved weeds. *Polish Journal of Environmental Studies* 22, 541–551.
- Swinnen, J., 1994. Rhizodeposition and turnover of root-derived organic material in barley and wheat under conventional and integrated management. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 51, 115–128. doi:10.1016/0167-8809(94)90038-8
- Wichern, F., Mayer, J., Georg, R., Müller, T., 2007a. Rhizodeposition of C and N in peas and oats after ¹³C – ¹⁵N double labelling under field conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2527–2537. doi:10.1016/j.soilbio.2007.04.022
- Wichern, F., Mayer, J., Joergensen, R.G., Müller, T., 2007b. Release of C and N from roots of peas and oats and their availability to soil microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2829–2839. doi:10.1016/j.soilbio.2007.06.006

Chapitre 5. Discussion générale

Discussion générale

L'assemblage des communautés végétales ou de microorganismes qui influencent le fonctionnement des agroécosystèmes dépend d'un ensemble de facteurs qui peuvent modifier la disponibilité en ressources, les conditions du milieu et/ou détruire partiellement ou totalement les communautés (perturbations). Ces facteurs agissent ainsi comme des filtres (Bardgett et al., 2001 ; Decaëns, 2010 ; Saunders et al., 2010 ; Navas, 2012 ; Gaba et al., 2014 ; Ranjan et al., 2015) et modifient la composition des communautés microbiennes et végétales ce qui peut conduire à des modifications des fonctions écosystémiques comme les interactions compétitives entre plantes ou la minéralisation de l'azote et du soufre. L'influence relative de ces différents facteurs dépend des échelles spatiales et temporelles d'analyse. Ainsi, en se positionnant à des échelles d'analyse différentes, de la plus globale (parcelle, succession de cultures) à la plus fine (plante), il est possible d'intégrer l'effet du climat, du type de sol (pH, texture, disponibilité en éléments nutritifs...), des pratiques agricoles et des espèces végétales cultivées (traits fonctionnels, exigences en éléments nutritifs...). Concernant plus particulièrement les espèces végétales cultivées, celles-ci agissent comme des filtres en modifiant la disponibilité en ressources et en conditionnant les régimes de perturbation (pratiques agricoles). Au cours de leur croissance, les plantes modifient la disponibilité en ressources en interceptant la lumière, en absorbant l'eau et des nutriments minéraux (selon leur exigence en éléments nutritifs). Les plantes modifient également la disponibilité en ressources en : *i*) libérant dans l'environnement racinaire un ensemble de composés organiques (processus de rhizodéposition) qui constituent des sources de C, N et S et d'énergie pour les communautés microbiennes du sol (Nguyen, 2003 ; Wichern et al., 2008) et, *ii*) en produisant et restituant des litières racinaires et aériennes, dont la qualité (C/N, C/S...) varie selon l'espèce végétale considérée. Ainsi, les différentes espèces végétales d'une rotation modifient successivement la nature (formes organiques et minérales) et la disponibilité des pools de nutriments dans le sol. Ces effets influencent la composition et les activités des communautés microbiennes du sol (van der Krift et al., 2001 ; Biederbeck et al., 2005 ; Xuan et al., 2012 ; Bell et al., 2015) et modifient la fonction la minéralisation des matières organiques dont N et S (Rasmussen et al., 1998 ; Carpenter-Boggs et al., 2000 ; Arcand et al., 2013, 2014 ; Kuzyakov et Zu, 2013).

Parmi les plantes cultivées, une légumineuse comme le pois présente des caractéristiques particulières qui contribuent aux bénéfices associés à l'introduction de cette culture, pour les cultures lui succédant (Jensen et al., 2012). Ainsi, de par sa capacité à fixer l'azote atmosphérique, le pois prélève peu d'azote minéral au cours de sa croissance (Carrouée et al., 1999). De plus, le pois libère des rhizodépôts et restitue des résidus présentant des C/N plus faibles que ceux des céréales ou du colza (Jensen, 1996c ; Kumar et Goh, 2002 ; Lupwayi et al., 2006 ; Wichern et al., 2007a ; Gan et al., 2011). Il est donc généralement admis que les résidus de pois ont un effet positif sur la minéralisation de N et que cette

culture contribue ainsi à augmenter la disponibilité en N pour les cultures qui lui succèdent (Jensen et al., 2012 ; Stevenson and van Kessel, 1996). Concernant le soufre, le pois présente des besoins en cet élément qui sont intermédiaires à ceux du colza et des céréales (Taureau et al., 1987). Les résidus de pois présentent en conséquence des C/S intermédiaires entre ceux de ces cultures (Taureau et al., 1987 ; Churka Blum et al., 2013). Néanmoins, peu de choses sont connues sur l'effet du pois sur les communautés microbiennes du cycle du soufre.

Ainsi le pois, en modifiant la disponibilité des ressources C, N et S dans le sol, serait susceptible d'influencer, en termes de composition, abondance et activités, les communautés microbiennes impliquées dans la minéralisation de N et S.

Outre les bénéfices sur la disponibilité en éléments nutritifs dans les sols, le pois constitue aussi un levier intéressant vis-à-vis des adventices. Ainsi, même si le pois de par sa biomasse faible (Carrouée et al., 1999 ; Arcand et al., 2013b) est peu compétitif vis-à-vis des adventices (Deveikyte et al., 2009 ; Sarunaite et al., 2013), l'introduction d'un pois de printemps dans une rotation à base de cultures d'hiver permet cependant de diversifier les dates des perturbations perçues par la communauté d'adventices. Ceci conduit à la sélection de communautés d'adventices plutôt inféodées aux cultures de printemps et, de fait, peu concurrentielles sur les cultures d'hiver et permet ainsi de réduire l'abondance des adventices dans les cultures d'hiver lui succédant (Fried et al., 2008a ; Poggio, 2005 ; Stevenson et van Kessel, 1996 ; Chauvel et al., 2001 ; Colbach et al., 2010), débouchant potentiellement sur une diminution de l'intensité de la compétition.

Afin d'évaluer et comprendre l'effet de l'introduction du pois dans une succession colza - céréales sur les communautés microbiennes impliquées dans la minéralisation de N et S, sur les communautés d'adventices et sur les fonctions écosystémiques portées par ces communautés (fonction de minéralisation de l'azote et du soufre, fonction de compétition culture - adventices), nous avons mis en place des expérimentations en conditions contrôlées et *in situ* (expérimentation pluriannuelle de plein champ). Ces deux échelles d'analyse nous ont permis d'une part, d'identifier les traits fonctionnels des plantes gouvernant leurs interactions avec les communautés microbiennes / adventices et d'autre part, d'estimer le poids relatif du climat sur certains de ces interactions.

1. Effet des plantes cultivées sur les activités enzymatiques impliquées dans la minéralisation de l'azote et du soufre

La minéralisation de la matière organique est la résultante d'une succession d'étapes catalysées par des enzymes principalement d'origine microbienne. Ainsi, les enzymes extracellulaires sont impliquées

dans les premières étapes de décomposition de la matière organique et libèrent, à partir de polymères organiques complexes des composés organiques plus simples bio-disponibles pour les communautés microbiennes (Allison et Vitousek, 2005 ; Schimel et Bennett, 2004). Les composés organiques sont susceptibles d'être alors hydrolysés par des enzymes microbiennes qui libèrent des éléments minéraux (minéralisation). Ces activités microbiennes, dont la synthèse peut être influencée par la diversité, l'abondance des communautés microbiennes et les conditions du milieu, vont conditionner les flux d'éléments minéraux et leur biodisponibilité pour les plantes (Jan et al., 2009 ; Fornara et al., 2011 ; Schimel et Bennett, 2004). Parmi les activités enzymatiques impliquées dans la décomposition / minéralisation de N et S, les activités protéase (Zaman et al., 1999 ; Mishra et al., 2005 ; Yuan et al., 2011) d'ammonification (Bonde et al., 2001) et arylsulfatase (Riffaldi et al., 2006 ; Balota et al., 2014) peuvent être considérées comme des activités «clés» et de fait, constituent des marqueurs intéressants des fonctions de minéralisation de N/S. En effet, les protéases extracellulaires qui réalisent une étape limitante de la minéralisation de N en hydrolysant les protéines, principale forme de N organique dans les sols, et les activités d'ammonification qui libèrent de la première forme de N minéral (ammonium), ont été corrélées à la minéralisation de N dans les sols (Zaman et al., 1999 ; Bonde et al., 2001 ; Mishra et al., 2005 ; Jones et al., 2004 ; Jan et al., 2009). De manière similaire, les arylsulfatases, qui libèrent des sulfates à partir d'esters de sulfate, formes majeures et parmi les plus labiles de S organique dans les sols, sont corrélées aux flux de S (Dedourge et al., 2003, 2004 ; Vong et al., 2003, 2008 ; Riffaldi et al., 2006 ; Balota et al., 2014).

Si l'effet des espèces végétales sur les activités arylsulfatase, protéase et d'ammonification ont été décrites dans la littérature, les mécanismes fins par lesquelles les plantes, au travers de leurs caractéristiques biologiques aériennes ou racinaires, influencent ces activités sont mal connus. De plus, l'effet relatif d'autres filtres environnementaux tel que le climat sur ces activités et leurs résultantes sur la fonction de minéralisation sont également mal caractérisés.

En limitant les variations des propriétés du sol (pH, humidité...) qui sont parmi les facteurs les plus susceptibles d'influencer les communautés microbiennes du sol (Lauber et al., 2009 ; Serna-Chavez et al., 2013), les expérimentations en conditions contrôlées ont permis d'identifier certains des traits fonctionnels des plantes qui influencent les activités protéase et d'ammonification. Nous avons choisi de ne considérer que les traits racinaires, d'une part, parce que les racines sont les organes clés pour l'acquisition des éléments nutritifs et pour la libération de rhizodépôts (Bardgett et al., 2014) et, d'autre part, parce que les traits racinaires et aériens ne sont pas toujours corrélés (Orwin et al., 2010). L'expérimentation au champs, conduite sur plusieurs années, a permis de prendre en compte, en plus des effets des espèces végétales, les effets des propriétés abiotiques (variation du climat local, pH du

sol, humidité, température...) qui influencent les communautés microbiennes et leurs activités. Nous avons ainsi pu identifier, les facteurs expliquant le plus les variations de composition, d'abondance des communautés microbiennes, d'activités arylsulfatase et protéase et la résultante sur les flux de minéralisation de N / S. Enfin, il faut remarquer que nous avons tenté d'appréhender si les facteurs qui influencent des activités de décomposition des matières organiques ou des activités de minéralisation sont similaires ou non.

1.1 Effet des plantes cultivées sur les activités enzymatiques impliquées dans la minéralisation : ammonification et activité arylsulfatase

En conditions contrôlées, nous avons montré que l'activité potentielle d'ammonification est influencée par la croissance du pois. Ainsi, au cours du développement du pois, l'activité d'ammonification augmente fortement au stade de remplissage des graines, un stade où le pois présente de forts besoins en N (Salon et al., 2001 ; Voisin et al., 2007) et modifie son profil de rhizodéposition. En effet, aux stades reproducteurs, le pois diminue la quantité de C rhizodéposé et augmente la libération d'acides aminés (Jensen et al., 1996 ; Wichern et al., 2007, 2008 ; Arcand et al., 2013). Nous avons montré qu'une **combinaison de traits racinaires permet d'expliquer plus de 50% des variations d'activité potentielle d'ammonification** observées au cours de la croissance du pois. Les traits racinaires identifiés sont soit des traits liés à la croissance comme le RDMC et RMF, soit des traits d'architecture tels que longueur racinaire totale et le pourcentage de racines fines. Il faut remarquer que si ces traits qui sont reliés à l'acquisition de N et au processus de rhizodéposition (Roumet et al., 2008), influencent l'activité d'ammonification, ils n'influencent pas les variables d'abondance des communautés microbiennes. Nous avons montré que les traits racinaires identifiés influencent soit directement l'activité d'ammonification (RDMC, longueur racinaire totale et pourcentage de racines fines), soit indirectement via leurs effets sur le pool de C labile dans le sol (RMF, pourcentage de racines fines). Cependant, nous avons observé que le RDMC ne contribue que faiblement à expliquer les variations d'activité d'ammonification. Ceci permet donc de suggérer que ce sont principalement les traits d'architecture racinaire qui influencent l'activité d'ammonification soit de manière directe, soit en modulant la disponibilité du pool de C labile du sol.

Ces résultats nous permettent de proposer un modèle des relations entre l'activité d'ammonification et le pois :

Aux stades reproducteurs, en allouant le C fixé au remplissage des grains (Voisin et al., 2003), le pois réduirait l'allocation de C vers le sol. Ceci est suggéré par la relation positive observée entre le RMF, qui diminue significativement aux stades reproducteurs, et la teneur en C labile du sol. En diminuant la disponibilité en C labile dans le sol aux stades reproducteurs, le pois stimulerait la minéralisation des

acides aminés rhizodéposés *via* l'activité d'ammonification. La relation positive observée entre le pourcentage de racines fines qui jouent un rôle important dans la rhizodéposition des acides aminés (Eissenstat et al., 2005 ; Gordon et Jackson, 2000 ; Tjoelker et al., 2005 ; Jones et al., 2005) et l'activité d'ammonification renforce cette hypothèse. La minéralisation des acides aminés permettrait ainsi aux microorganismes de répondre à leurs besoins en C. Cette augmentation contribuerait également à libérer dans le sol de l'ammonium, à un stade où le pois a de forts besoins en N (Salon et al., 2001, Voisin et al., 2007). L'ensemble de ces résultats nous laisse supposer qu'il pourrait s'agir d'une stratégie développée par le pois visant à optimiser sa fourniture en azote (Knops et al., 2002).

Au champ, nous avons analysé, sur plusieurs années, l'influence de différentes cultures de la rotation *i.e.* le pois, le colza, l'orge et de deux précédents du blé *i.e.* pois et colza sur l'activité arylsulfatase impliquée dans la minéralisation de S. Dans ces conditions, nous n'avons observé aucun effet des couverts végétaux au cours de leur développement ou en tant que précédent (via l'enfouissement de leurs résidus) sur l'activité arylsulfatase. La raison principale en est probablement la très forte influence qu'avaient les variables climatiques (notamment la température) sur cette activité enzymatique. La même tendance s'observait pour l'abondance des bactéries cultivables à activité arylsulfatase. Ce résultat met en évidence l'importance de prendre en compte l'ensemble des filtres environnementaux (Figure 1), comme la variabilité climatique interannuelle, dont l'effet sur les communautés microbiennes a plusieurs fois été observé (Franzuebbers et al., 2001 ; Sardans et Penuelas, 2005 ; Castro et al., 2010 ; Serna-Chavez et al., 2013 ; Mancinelli et al., 2013 ; Fraser et al., 2013 ; Vanegas et al., 2013).

1.2 Effet des plantes cultivées sur les activités enzymatiques impliquées dans la décomposition du N organique : cas de l'activité protéase

En conditions contrôlées, nous avons observé que l'activité protéase ne varie pas au cours du développement d'une culture, qu'il s'agisse du pois ou du blé. Les activités extracellulaires impliquées dans la décomposition de la matière organique telles que les protéases sont induites en réponse à la présence d'un substrat, dans des conditions limitantes en éléments nutritifs et en fonction de la disponibilité en C (Allison et Vitousek, 2005). La synthèse de ces enzymes permet aux microorganismes d'exploiter des ressources azotées complexes présentes dans le sol et ainsi, de répondre à leurs besoins en N. Ces enzymes peuvent également être synthétisées de manière constitutive ou être stabilisées sur les colloïdes du sol (Vranova et al., 2013). Sous couvert de pois, la libération de rhizodépôts présentant des C/N faibles et comprenant des quantités importantes de composés labiles

tels que des acides aminés réduit les limitations en N généralement induites par la rhizodéposition C (Kuzakov, 2002). En conséquence, la disponibilité importante en ressources N ne nécessiterait pas la

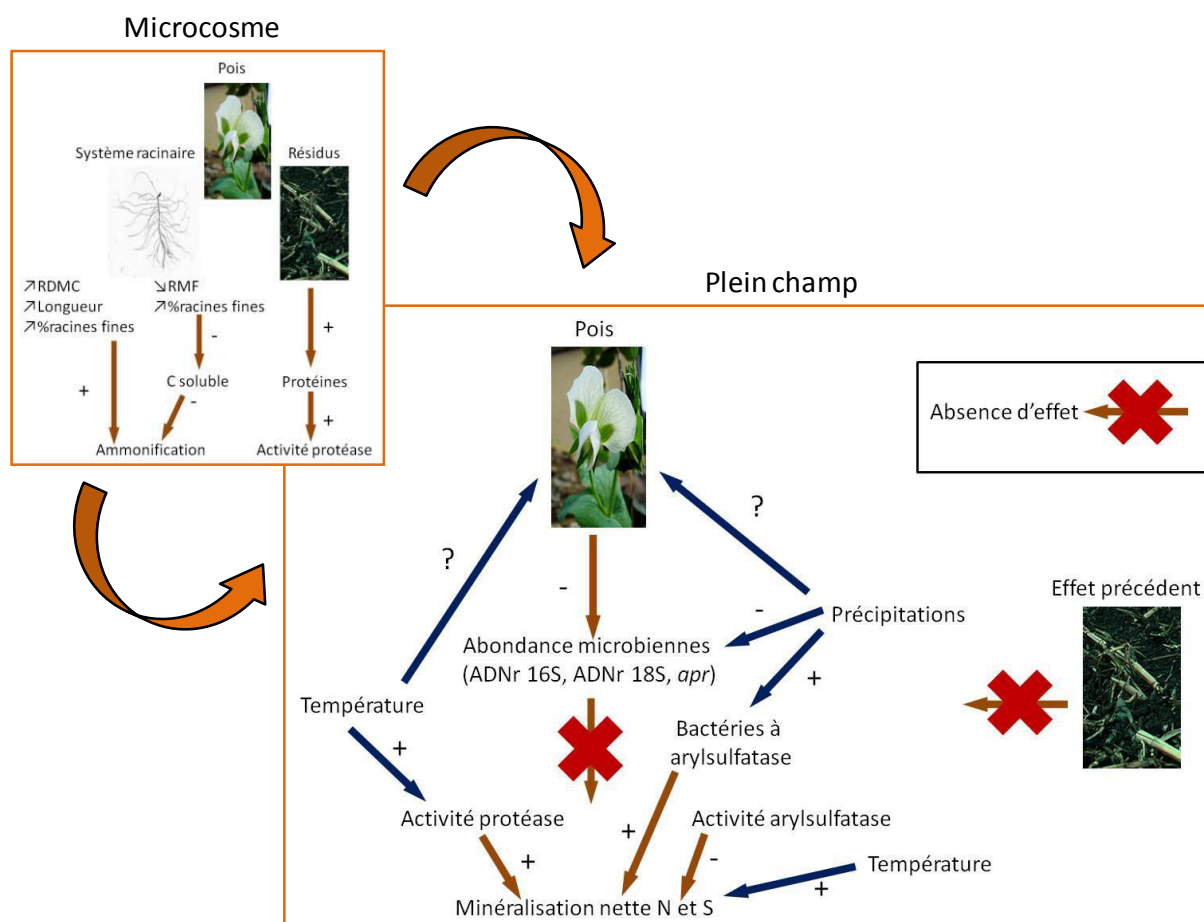


Figure 1 Effet du pois sur les communautés microbiennes

synthèse d'enzymes permettant aux microorganismes d'exploiter des ressources complémentaires de N. Par contre, nous avons observé que l'incorporation de résidus de pois conduit à l'induction de l'activité protéase au cours de la croissance du blé. Il faut noter que la présence de rhizodépôts N dans les sols amendés en résidus de pois ne module pas l'induction de cette activité. Dans les sols amendés en résidus, nous avons également observé que le ratio C/N labile du sol est supérieur à celui des sols non amendés. Ces différences de disponibilité en N labile comparativement à la disponibilité en C labile pourraient donc créer des conditions limitantes en N, combinés à l'induction de la synthèse des protéases par leur substrat (Geisseler et Horwath, 2008), qui feraient des résidus de pois, dont les teneurs en protéines sont supérieures à celles de résidus de céréales, une source privilégiée de N pour les microorganismes.

Comparativement aux activités d'ammonification, nous avons observé que les **traits racinaires de la plante cultivée n'influencent pas (cas du pois) ou modérément (cas du blé) les activités protéase**, comme cela a été préalablement observé dans le cas d'autres activités impliquées dans la minéralisation de N telle que la nitrification (Legay et al., 2014). Sous couverts de blé, nous avons ainsi mis en évidence que certains traits racinaires en lien avec l'acquisition des éléments nutritifs, *i.e.* RDMC et longueur totale du système racinaire, contribuent indirectement à expliquer les variations d'activité protéase. En effet, ces traits semblent influencer la taille de la biomasse microbienne azotée, elle-même corrélée positivement à l'activité protéase. De telles relations indirectes entre traits racinaires, biomasse microbienne et activités ont été déjà observées dans d'autres études (Legay et al., 2014 ; Orwin et al., 2010 ; de Vries et al., 2012). Cependant, comparativement à ces études, nos résultats montrent que ces interactions entre traits racinaires et biomasse microbienne n'expliquent qu'environ 20% des variations d'activité protéase. Ces résultats suggèrent que la synthèse de protéases est donc majoritairement indépendante de la croissance microbienne et renforcent l'hypothèse selon laquelle les activités protéase sont principalement régulées par la présence de substrats en fonction de la disponibilité relative en C et N du sol.

En conditions du plein champ, nous avons observé que l'activité protéase ne variait ni en fonction de la plante cultivée (cola, orge ou pois) ni en fonction du précédent (colza ou pois), et que cette activité était découplée des évolutions de l'abondance des gènes codant pour des métalloprotéases alcalines. Comme pour l'activité arylsulfatase, cette absence d'effet des plantes résultait avant tout de la forte influence du climat, principalement de la température, sur cette activité. Les mécanismes d'action de la température sur les activités protéase sont peu clairs mais pourraient inclure des modifications de la rhizodéposition (Usselman et al., 2000), des modifications de l'abondance et de la structure de la communauté microbienne (Barcenas-Moreno et al., 2009; Castro et al., 2010; Gray et al., 2011), des modifications du turnover de la biomasse microbienne (Joergensen et al., 1990; Wu et al., 2010) ou des modifications des vitesses de diffusion et de consommation des substrats et des produits (Zhang et al., 2013). Une interaction entre conditions climatiques et plantes cultivées est également possible puisque la relation activité protéase-température était plus forte sous le colza que sous les autres cultures.

1.3. Bilan

Les expérimentations conduites en conditions contrôlées ont permis de montrer que les traits racinaires contribuent bien à expliquer les interactions entre plantes et communautés microbiennes et leurs effets sur des enzymes impliquées dans la décomposition-minéralisation de la matière

organique. Nous avons mis en évidence que les traits racinaires en lien avec l'acquisition des éléments nutritifs et la rhizodéposition sont les principaux traits influençant directement et/ou indirectement les activités microbiennes suivies. Enfin, nous avons montré que ces traits racinaires contribuent mieux à expliquer des activités microbiennes conduisant à la libération d'éléments minéraux (ammonification) que des activités impliquées dans la décomposition (protéase).

In situ, nous avons observé que ce sont essentiellement les variations de conditions climatiques qui influencent les communautés microbiennes en termes d'activité. L'importance du climat pour la minéralisation de l'azote et du soufre a été montrée par plusieurs études (Scott et Binkley, 1997 ; Robinson, 2002 ; Lilburne et al., 2003 ; Kabba et Aulakh, 2004 ; Groffman et al., 2009) mais peu d'études ont abordé l'importance relative du climat et des plantes sur la minéralisation dans les agroécosystèmes. Nos travaux soulignent l'influence du climat annuel sur les activités protéase et arylsulfatase, dont les variations expliquent en grande partie la minéralisation nette de N et S. Il serait cependant nécessaire de conduire des études ultérieures sur les éventuelles interactions entre espèce cultivée et conditions climatiques annuelles.

2. Effet des plantes cultivées sur les adventices

L'effet des cultures (pois et colza) sur l'abondance et la diversité fonctionnelle des adventices est fort dans le système que nous avons étudié. Le pois présentait une communauté d'adventices plus abondante que le colza mais également plus diversifiée fonctionnellement, avec des individus de plus grande taille et de plus grande largeur que dans le colza. Cet effet est probablement dû à la faible compétitivité du pois (Deveikyte et al., 2009 ; Sarunaite et al., 2013), qui favorise la coexistence de plantes avec des stratégies écologiques variées. Les adventices du pois ont également en moyenne un SLA plus fort et un LDMC plus faible que les adventices du colza, ce qui peut être lié à une communauté d'adventices présentant des stratégies plus rudérale en raison de la date de semis tardive du pois. En conséquence, l'*overlap* entre les valeurs de traits fonctionnels du pois et de ses adventices est plus important que celui observé entre le colza et ses adventices.

Ces différences dans la composition fonctionnelle des communautés d'adventices du pois et du colza sont peut-être responsables des différences taxonomiques observées entre les communautés d'adventices du blé faisant suite au pois ou au colza. Cependant, ces deux communautés d'adventices n'étaient pas différentes fonctionnellement. Il apparaît donc que l'identité de la culture (ici, le blé) constitue un filtre très important pour les traits fonctionnels des adventices. En effet, la présence du blé semble être suffisante pour rendre fonctionnellement similaires deux communautés qui sont taxonomiquement différentes (Figure 2). Cet effet peut être attribué soit à la grande plasticité

phénotypique des adventices (Perronne et al., 2014), soit à la sélection d'espèces fonctionnellement similaires par la culture (Fried et al., 2015).

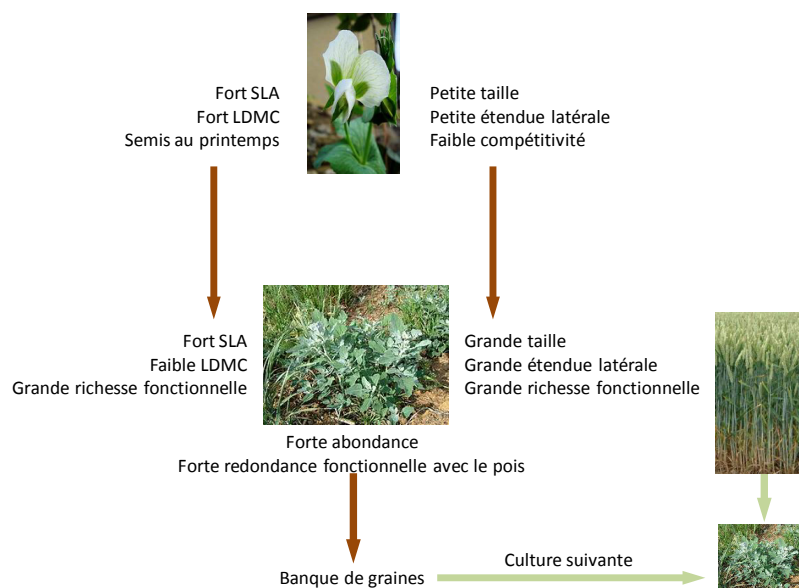


Figure 2 Effet du pois sur les communautés d'adventices

Néanmoins, les adventices étaient moins abondantes dans le blé suivant le pois que dans le blé suivant le colza, un résultat en accord avec la littérature, où les adventices sont souvent moins abondantes dans une culture d'hiver suivant une culture d'hiver que dans une culture d'hiver suivant une culture de printemps (Stevenson et van Kessel, 1996 ; Chauvel et al., 2001 ; Colbach et al., 2010). En conséquence, la communauté d'adventices du blé suivant le pois étant fonctionnellement identique à la communauté d'adventices du blé suivant le colza mais étant moins abondante, elle exercerait probablement une compétition moins intense vis-à-vis de la culture en place.

Cependant, notre jeu de données ne permettait pas de tester les effets de la variabilité climatique interannuelle sur la composition fonctionnelle des communautés d'adventices. Cette variabilité existe probablement car un effet du climat de l'année a été montré sur l'abondance des adventices (Milberg et al., 2000, Borgy et al., 2015).

En résumé, les plantes cultivées au champ, modifient l'abondance et la composition des communautés microbiennes et adventices pendant leur cycle de développement mais cet effet s'estompe sous la culture suivante en raison des effets exercés par cette culture et surtout par les facteurs climatiques de l'année. Les différences d'abondance et de composition des communautés induites par les plantes n'entraînent pas forcément de modification des processus écosystémiques, les activités enzymatiques ne variant ainsi qu'en réponse aux facteurs climatiques.

3. Limites de l'étude

Les travaux réalisés comprennent certaines limites, liées notamment aux variables suivies :

Dans les expérimentations en conditions contrôlées, nous avons étudié les relations entre les traits fonctionnels racinaires des plantes et les activités enzymatiques en lien avec les processus de décomposition/minéralisation de N. Même si les traits fonctionnels aériens et notamment ceux impliqués dans l'acquisition des ressources sont connus pour influencer les communautés microbiennes (Perez-Ramos et al., 2012 ; Garcia-Palacios et al., 2013), les traits fonctionnels racinaires sont largement sous étudiés. Cependant, nous avons identifié un certain nombre de traits racinaires qui contribuer à expliquer les variations d'activités microbiennes de décomposition/minéralisation de N. Ces traits, RMF, RDMC, pourcentage de racines fines, masse racinaire et longueur racinaire font partie des traits fonctionnels d'effet ou de réponse déjà identifiés chez les plantes (Eissenstat, 1992 ; Ryser, 1998 ; Wahl et Ryser, 2000 ; Poorter et Sack, 2012 ; Perez-Ramos et al., 2012 ; Fortunel et al., 2012). Cependant, les traits fonctionnels racinaires que nous avons suivis permettent d'expliquer qu'une partie de la variabilité observée. Il serait donc intéressant de prendre en compte également des traits fonctionnels aériens, qui varient souvent de manière indépendante des traits racinaires (Schippers et Olff, 2000 ; Tjoelker et al., 2005 ; Fort et al., 2013).

Dans l'expérimentation conduite au champ, l'analyse des traits racinaires n'a pas été réalisée. Même si nous avons montré que l'effet des variables climatiques sur les communautés microbiennes est potentiellement plus fort que l'effet des plantes, il aurait été intéressant d'évaluer comment les traits racinaires influencent en conditions naturelles les relations plante-microorganismes. Cependant, l'analyse de traits racinaires au champ souffre de limites méthodologiques encore plus importantes que celles rencontrées en conditions contrôlées, notamment en termes d'échantillonnage des systèmes racinaires, ce qui limite la mise en œuvre de telles approches au champ.

Afin d'analyser les processus en lien avec les fonctions de minéralisation de N et S, nous avons choisi des activités enzymatiques microbiennes indicatrices. Les mesures d'activités enzymatiques présentent certains biais, notamment liés aux conditions dans lesquelles ces activités sont mesurées (conditions optimales de température et pH ; utilisation d'un substrat modèle) qui ne représentent pas les conditions réelles du sol (Nannipieri et al., 2012 ; Vranova et al., 2013). La pertinence d'utiliser une activité enzymatique comme indicateur de processus écosystémiques a également été critiquée car une unique mesure d'activité ne permet pas de prendre en compte la diversité des enzymes capables de réaliser le processus (Nannipieri et al., 2002, 2012). Dans nos conditions, le choix des enzymes

suivies apparaît pertinent puisque nous avons observé que ces activités enzymatiques (protéases, arylsulfatase) étaient corrélées à la minéralisation dans l'expérimentation au champ.

Concernant les communautés d'adventices, la variabilité spatio-temporelle de ces espèces complique l'échantillonnage (Booth et al., 2003), notamment en raison des différences de dates d'émergence entre espèces. Ces différences induisent un biais dans les mesures de traits fonctionnels puisque ceux-ci sont susceptibles de varier en fonction du stade de développement des plantes.

Les travaux réalisés comprennent également des limites concernant la prise en compte au champ, des interactions multiples entre plantes cultivées – adventices et communautés microbiennes :

Notre expérimentation en plein champ a été conçue pour étudier à la fois les interactions entre culture et adventices et entre culture et microorganismes. Il est probable que les espèces d'adventices présentes dans l'essai aient également eu une influence sur les communautés microbiennes, soit directement, soit en modifiant les caractéristiques de la culture. Les communautés microbiennes pourraient également influencer les adventices en modifiant la disponibilité en nutriments. Ainsi, la minéralisation des rhizodépôts du pois par les communautés microbiennes (Jensen, 1996c) pourrait améliorer la nutrition azotée des adventices. La prise en compte des interactions multipartites, aurait certainement permis de mieux comprendre à la fois les évolutions des communautés microbiennes et des communautés d'adventices. Dans cette optique, la mesure au champ d'un plus grand nombre de traits fonctionnels de la culture, notamment des traits racinaires qui font preuve de plasticité en cas d'interactions interspécifiques (Valverde-Barrantes et al., 2013), aurait probablement été utile.

4. Perspectives

Différentes perspectives de recherches émergent de ce travail, dont certaines sont facilement réalisables à partir des données collectées sur l'essai au champ et non encore exploitées.

Ainsi, nous avons considéré la composition fonctionnelle de la communauté d'adventices indépendamment de sa composition spécifique. Particulièrement, nous avons utilisé l'overlap des traits fonctionnels comme un indicateur de la compétition entre le pois et l'ensemble des adventices. Cependant, la compétition s'exerce aussi entre les espèces d'adventices, qui présentent des valeurs de traits fonctionnels et des aptitudes compétitives variées (Goldberg et Landa, 1991 ; Torner et al., 2000 ; Singh et Singh, 2012). Il serait intéressant de voir comment les traits fonctionnels de certaines

espèces particulières d'adventices (par exemple, espèces pérennes et espèces annuelles) se modifient en fonction de la culture. La plasticité phénotypique importante des adventices a été montrée sur un gradient bordure-centre du champ (Perronne et al., 2014) mais pas à notre connaissance entre plusieurs cultures. De même, il serait intéressant de voir si la ressemblance fonctionnelle entre les différentes espèces d'adventices augmente ou diminue en fonction de la culture dans laquelle elles croissent, en particulier entre des cultures de compétitivité variée, afin de mettre en évidence des phénomènes de différenciation de niche ou de hiérarchie des traits. Ces analyses, réalisables avec les jeux de données collectés sur notre essai au champ, pourraient nous aider à comprendre comment des communautés d'adventices à la composition spécifique différente peuvent maintenir des traits fonctionnels identiques, comme nous l'avons observé.

Les données portant sur les communautés d'adventices analysées dans notre étude ne couvraient qu'une seule année. Cependant, nous avons mis en évidence la nécessité d'utiliser des jeux de données couvrant plusieurs années afin de prendre en compte l'effet de la variabilité climatique interannuelle sur les communautés microbiennes. Il est probable que cet effet existe également sur les communautés d'adventices. Notamment, des modifications de la disponibilité en eau, de la luminosité ou de la date de fermeture du couvert en fonction du climat de l'année devraient modifier la disponibilité en ressources pour les adventices et donc le niveau de compétition entre culture et adventices. Il a par exemple été montré que la biomasse d'adventices varie d'année en année en fonction de paramètres climatiques (Milberg et al., 2000). Il serait donc intéressant d'observer comment les valeurs des traits fonctionnels impliqués dans la capture de nutriments et la réponse à la compétition varient d'année en année et s'ils débouchent sur des modifications de l'overlap fonctionnel entre culture et adventices. Les jeux de données collectés sur notre essai rotation peuvent nous permettre de répondre à cette question.

Nous avons montré que le pois modifie l'abondance et/ou la composition des communautés microbiennes et adventices au-cours de son développement. Néanmoins, les communautés microbiennes et adventices ont été étudiées séparément par des méthodes techniquement et conceptuellement différentes. Ainsi, s'il est possible de déterminer la diversité fonctionnelle des adventices en mesurant les traits fonctionnels au-niveau de l'individu, ceci n'est pas encore possible chez les microorganismes (Fierer et al., 2014). En revanche, la détermination de la diversité taxonomique est possible à la fois chez les plantes et les bactéries. Néanmoins, il n'existe pas de définition consensuelle de l'espèce chez les bactéries (Cohan, 2002 ; Lawrence et Retchless, 2010) et les entités utilisées pour la détermination de la diversité taxonomique bactérienne (unités

taxonomiques opérationnelles avec une similarité de 97%) sont plus ou moins arbitraires (Koeppel et Wu, 2013).

Pourtant, des similarités de stratégie écologique existent entre bactéries et adventices qui rendraient intéressantes des approches similaires de caractérisation de la composition et de la diversité. Cray et al. (2013) ont proposé que les microorganismes des sols, particulièrement ceux de la rhizosphère, présentent des stratégies écologiques similaires à celles des plantes adventices, caractérisées par des taux de croissance élevés, une capacité d'acquisition des nutriments élevée et une grande plasticité phénotypique. Les communautés d'adventices et de microorganismes des sols sont structurées par des gradients de perturbations et de ressources causées par les pratiques agricoles tout en présentant une forte variabilité spatio-temporelle. Il serait donc intéressant de mesurer conjointement leurs réponses aux pratiques agricoles (Horner-Devine et al., 2007).

Une des possibilités pour estimer simultanément la diversité des communautés bactériennes et végétales pourrait être d'utiliser des indices de diversité phylogénétique, basés sur la forme des arbres phylogénétiques (Faith, 1992, 2013 ; Cardoso et al., 2014), qui ne présentent pas de difficultés conceptuelles ou techniques majeures. De plus, des liens entre diversité phylogénétique et diversité fonctionnelle ainsi qu'entre diversité phylogénétique et mécanismes d'assemblage des communautés ont été mis en évidence, et évitent la question du choix des traits fonctionnels à mesurer (Cadotte et al., 2009 ; Mouquet et al., 2012 ; Stegen et al., 2012). Ce type d'analyse est possible avec les jeux de données que nous possédons sur la composition taxonomique des communautés d'adventices et de bactéries.

Une autre manière de s'intéresser à la composition fonctionnelle des deux communautés pourrait être de s'intéresser à leurs stratégies écologiques. Les traits fonctionnels foliaires des adventices peuvent être reliés aux stratégies d'acquisition et d'utilisation des ressources (stratégie conservative ou exploitative) des plantes (Wright et al., 2004 ; Pierce et al., 2013). Ces stratégies correspondent aux stratégies copiotrophes et oligotrophes des bactéries (Fierer et al., 2007) qui pourraient être évaluées par le taux de croissance des bactéries cultivées (Davis et al., 2011) ou par des méthodes moléculaires (Klappenbach et al., 2000).

Ces possibilités d'appréhender conjointement la réponse des communautés d'adventices et de bactéries aux pratiques agricoles ou aux plantes cultivées soulèvent la question des interactions entre adventices et microorganismes. Les adventices ont un effet direct sur les microorganismes (rhizodéposition, prélèvement de nutriments, symbioses et mutualismes, production de résidus) (Li et Kremer, 2000 ; Bowatte et al., 2010 ; Corneo et al., 2011). Les adventices peuvent également agir indirectement sur les communautés microbiennes, au travers de la compétition avec la culture. Cette compétition est en effet susceptible de modifier la quantité de carbone et de nutriments minéraux

assimilés par la plante cultivée, et peut donc influencer la quantité / qualité de ressources disponibles pour les microorganismes.

Cette question serait particulièrement intéressante à étudier sous une culture peu compétitive comme le pois où l'abondance des adventices pourrait influencer significativement les processus écosystémiques. Les jeux de données collectés sur notre essai en plein champ ne permettent pas de répondre à ces questions. Néanmoins, nous pouvons imaginer que des communautés adventices-cultures reconstituées en microcosmes seraient adaptées pour répondre à cette question. Il est imaginable de créer des communautés artificielles culture-adventices présentant une diversité fonctionnelle plus ou moins grande, par exemple au-niveau des traits racinaires, ou étant plus ou moins en compétition pour la lumière ou les ressources du sol. De telles expérimentations seraient similaires à celles déjà réalisées sur les associations de culture (Hinsinger et al., 2011 ; Coulis et al., 2014).

Références

- Allison, S.D., Vitousek, P.M., 2005. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 937–944. doi:10.1016/j.soilbio.2004.09.014
- Arcand, M.M., Knight, J.D., Farrell, R.E., 2014. Differentiating between the supply of N to wheat from above and belowground residues of preceding crops of pea and canola. *Biology and Fertility of Soils* 50, 563–570. doi:10.1007/s00374-013-0877-4
- Arcand, M.M., Knight, J.D., Farrell, R.E., 2013. Estimating belowground nitrogen inputs of pea and canola and their contribution to soil inorganic N pools using ¹⁵N labeling. *Plant and Soil* 371, 67–80. doi:10.1007/s11104-013-1626-z
- Balota, E.L., Yada, I.F., Amaral, H., Nakatani, A.S., Dick, R.P., Coyne, M.S., 2014. Long-term land use influences soil microbial biomass P and S, phosphatase and arylsulfatase activities, and S mineralization in a Brazilian oxisol. *Land Degradation and Development* 25, 397–406. doi:10.1002/ldr.2242
- Bárcenas-Moreno, G., Brandón, M.G., Rousk, J., Bååth, E., 2009. Adaptation of soil microbial communities to temperature: Comparison of fungi and bacteria in a laboratory experiment. *Global Change Biology* 15, 2950–2957. doi:10.1111/j.1365-2486.2009.01882.x
- Bardgett, R.D., Jones, a C., Jones, D.L., Kemmitt, S.J., Cook, R., Hobbs, P.J., 2001. Soil microbial community patterns related to the history and intensity of grazing in sub-montane ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry* 33, 1653–1664. doi:10.1016/S0038-0717(01)00086-4
- Bardgett, R.D., Mommer, L., De Vries, F.T., 2014. Going underground: Root traits as drivers of ecosystem processes. *Trends in Ecology and Evolution* 29, 692–699. doi:10.1016/j.tree.2014.10.006
- Bell, C.W., Asao, S., Calderon, F., Wolk, B., Wallenstein, M.D., 2015. Plant nitrogen uptake drives rhizosphere bacterial community assembly during plant growth. *Soil Biology and Biochemistry* 85, 170–182. doi:10.1016/j.soilbio.2015.03.006
- Biederbeck, V.O., Zentner, R.P., Campbell, C.A., 2005. Soil microbial populations and activities as influenced by legume green fallow in a semiarid climate. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 1775–1784. doi:10.1016/j.soilbio.2005.02.011
- Bonde, T.A., Nielsen, T.H., Miller, M., Sørensen, J., 2001. Arginine ammonification assay as a rapid index of gross N mineralization in agricultural soils. *Biology and Fertility of Soils* 34, 179–184. doi:10.1007/s003740100395

- Booth, B.D., Murphy, S.D., Swanton, C.J., 2003. Weed ecology in natural and agricultural systems. CABI PUBLISHING, Oxon, Royaume Uni.
- Borgy, B., Perronne, R., Kohler, C., Grison, A.-L., Amiaud, B., Gaba, S., 2015. High importance of intraspecific trait variability in weed species response to climate and management changes. *Weed Research*.
- Bowatte, S., Ishihara, R., Asakawa, S., Kimura, M., 2010. Characterization of ammonia oxidizing bacteria associated with weeds in a Japanese paddy field using amoA gene fragments. *Soil Science and Plant Nutrition* 37–41. doi:10.1111/j.1747-0765.2006.00077.x
- Cadotte, M.W., Cavender-Bares, J., Tilman, D., Oakley, T.H., 2009. Using phylogenetic, functional and trait diversity to understand patterns of plant community productivity. *PLoS ONE* 4, 1–9. doi:10.1371/journal.pone.0005695
- Cardoso, P., Rigal, F., Borges, P. a. V., Carvalho, J.C., 2014. A new frontier in biodiversity inventory: a proposal for estimators of phylogenetic and functional diversity. *Methods in Ecology and Evolution* 5, 452–461. doi:10.1111/2041-210X.12173
- Carpenter-Boggs, L., Pikul, J.L.J., Vigil, M.F., Riedell, W.E., 2000. Soil nitrogen mineralization influenced by crop rotation and nitrogen fertilization. *Soil Science Society of America Journal* 64, 2038–2045.
- Carrouée, B., Jannot, P., Justes, E., Kouassi, A., Mathys, L., 1999. Fertilisation azotée de trois légumineuses. Le haricot, la luzerne et le pois protéagineux. Comité d'orientation pour des pratiques agricoles respectueuses de l'environnement, Paris, France.
- Castro, H.F., Classen, A.T., Austin, E.E., Norby, R.J., Schadt, C.W., 2010. Soil microbial community responses to multiple experimental climate change drivers. *Applied and Environmental Microbiology* 76, 999–1007. doi:10.1128/AEM.02874-09
- Chauvel, B., Guillemin, J.P., Colbach, N., Gasquez, J., 2001. Evaluation of cropping systems for management of herbicide-resistant populations of blackgrass (*Alopecurus myosuroides* Huds.). *Crop Protection* 20, 127–137. doi:10.1016/S0261-2194(00)00065-X
- Churka Blum, S., Lehmann, J., Solomon, D., Caires, E.F., Alleoni, L.R.F., 2013. Sulfur forms in organic substrates affecting S mineralization in soil. *Geoderma* 200–201, 156–164. doi:10.1016/j.geoderma.2013.02.003
- Cohan, F.M., 2002. What are Bacterial Species? *Annual Review of Microbiology* 56, 457–487. doi:10.1146/annurev.micro.56.012302.160634
- Colbach, N., Schneider, A., Ballot, R., Vivier, C., 2010. Diversifying cereal-based rotations to improve weed control. Evaluation with the AlomySys model quantifying the effect of cropping systems on a grass weed. *OCL - Oleagineux Corps Gras Lipides* 17, 292–300. doi:10.1684/ocl.2010.0331
- Corneo, P.E., Pellegrini, A., Gessler, C., Pertot, I., 2011. Effect of weeds on microbial community in vineyards soil. *IOBC/WPRS Bulletin* 71, 19–22.
- Coulis, M., Bernard, L., G??rard, F., Hinsinger, P., Plassard, C., Villeneuve, M., Blanchart, E., 2014. Endogeic earthworms modify soil phosphorus, plant growth and interactions in a legume-cereal intercrop. *Plant and Soil* 1–12. doi:10.1007/s11104-014-2046-4
- Cray, J.A., Bell, A.N.W., Bhaganna, P., Mswaka, A.Y., Timson, D.J., Hallsworth, J.E., 2013. The biology of habitat dominance ; can microbes behave as weeds ? *Microbial Biotechnology* 6, 453–492. doi:10.1111/1751-7915.12027
- Davis, K.E.R., Sangwan, P., Janssen, P.H., 2011. Acidobacteria, Rubrobacteridae and Chloroflexi are abundant among very slow-growing and mini-colony-forming soil bacteria. *Environmental Microbiology* 13, 798–805. doi:10.1111/j.1462-2920.2010.02384.x
- Decaëns, T., 2010. Macroecological patterns in soil communities. *Global Ecology and Biogeography* 19, 287–302. doi:10.1111/j.1466-8238.2009.00517.x
- Dedourge, O., Vong, P., Benizri, É., Lasserre-joulin, F., Guckert, A., 2003. Immobilization of sulphur-35, microbial biomass and arylsulphatase activity in soils from field-grown rape, barley and fallow. *Biology and Fertility of Soils* 38, 181–185. doi:10.1007/s00374-003-0646-x

- Dedourge, O., Vong, P.C., Lasserre-Joulin, F., Benizri, E., Guckert, A., 2004. Effects of glucose and rhizodeposits (with or without cysteine-S) on immobilized-35S, microbial biomass-35S and arylsulphatase activity in a calcareous and an acid brown soil. *European Journal of Soil Science* 55, 649–656. doi:10.1111/j.1365-2389.2004.00645.x
- Deveikyte, I., Kadziulienė, Z., Sarunaite, L., 2009. Weed suppression ability of spring cereal crops and peas in pure and mixed stands. *Agronomy Research* 7, 239–244.
- Eissenstat, D.M., 1992. Costs and benefits of constructing roots of small diameter. *Journal of Plant Nutrition* 15, 763–782. doi:10.1080/01904169209364361
- Faith, D.P., 2013. Biodiversity and evolutionary history: Useful extensions of the PD phylogenetic diversity assessment framework. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1289, 69–89. doi:10.1111/nyas.12186
- Faith, D.P., 1992. Conservation evaluation and phylogenetic diversity. *Biological Conservation* 61, 1–10. doi:10.1016/0006-3207(92)91201-3
- Fierer, N., Barberan, A., Laughlin, D.C., 2014. Seeing the forest for the genes: using metagenomics to infer the aggregated traits of microbial communities. *Frontiers in Microbiology* 5, 1–6. doi:10.3389/fmicb.2014.00614
- Fierer, N., Bradford, M.A., Jackson, R.B., 2007. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology* 88, 1354–1364.
- Fornara, D.A., Bardgett, R., Steinbeiss, S., Zak, D.R., 2011. Plant effects on soil N mineralization are mediated by the composition of multiple soil organic fractions. *Ecological Research* 201–208. doi:10.1007/s11284-010-0777-0
- Fort, F., Jouany, C., Cruz, P., 2013. Root and leaf functional trait relations in Poaceae species: implications of differing resource-acquisition strategies. *Journal of Plant Ecology* 6, 211–219. doi:10.1093/jpe/rts034
- Fortunel, C., Fine, P.V. a, Baraloto, C., 2012. Leaf, stem and root tissue strategies across 758 Neotropical tree species. *Functional Ecology* 26, 1153–1161. doi:10.1111/j.1365-2435.2012.02020.x
- Franzluebbers, A.J., Haney, R.L., Honeycutt, C.W., Arshad, M.A., Schomberg, H.H., Hons, F.M., 2001. Climatic influences on active fractions of soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 33, 1103–1111. doi:http://dx.doi.org/10.1016/S0038-0717(01)00016-5
- Fraser, F.C., Hallett, P.D., Wookey, P.A., Hartley, I.P., Hopkins, D.W., 2013. How do enzymes catalysing soil nitrogen transformations respond to changing temperatures? *Biology and Fertility of Soils* 49, 99–103. doi:10.1007/s00374-012-0722-1
- Fried, G., Chauvel, B., Reboud, X., 2015. Weed flora shifts and specialisation in winter oilseed rape in France. *Weed Research* 55, 514–524. doi:10.1111/wre.12164
- Fried, G., Norton, L.R., Reboud, X., 2008. Environmental and management factors determining weed species composition and diversity in France. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 128, 68–76. doi:10.1016/j.agee.2008.05.003
- Gaba, S., Fried, G., Kazakou, E., Chauvel, B., Navas, M.L., 2014. Agroecological weed control using a functional approach: A review of cropping systems diversity. *Agronomy for Sustainable Development* 34, 103–119. doi:10.1007/s13593-013-0166-5
- Gan, Y.T.A., Liang, B.C.B., Liu, L.P.C., Wang, X.Y.A., McDonald, C.L.A., 2011. C:N ratios and carbon distribution profile across rooting zones in oilseed and pulse crops. *Crop and Pasture Science* 62, 496–503.
- García-Palacios, P., Vandegehuchte, M.L., Ashley Shaw, E., Dam, M., Post, K.H., Ramirez, K.S., Sylvain, Z. a., de Tomasel, C.M., Wall, D.H., 2014. Are there links between responses of soil microbes and ecosystem functioning to elevated CO₂, N deposition and warming? A global perspective. *Global Change Biology* n/a–n/a. doi:10.1111/gcb.12788
- Geisseler, D., Horwath, W.R., 2008. Regulation of extracellular protease activity in soil in response to different sources and concentrations of nitrogen and carbon. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 3040–3048. doi:10.1016/j.soilbio.2008.09.001

- Goldberg, D.E., Landa, K., 1991. Competitive Effect and Response - Hierarchies and Correlated Traits in the Early Stages of Competition. *Journal of Ecology* 79, 1013–1030. doi:10.2307/2261095
- Gordon, W.S., Jackson, R.B., 2000. Nutrient concentrations in fine roots. *Ecology* 81, 275–280. doi:10.1890/0012-9658(2000)081[0275:NCIFR]2.0.CO;2
- Gray, S.B., Classen, A.T., Kardol, P., Yermakov, Z., Michael Mille, R., 2011. Multiple climate change factors interact to alter soil microbial community structure in an old-field ecosystem. *Soil Science Society of America Journal* 75, 2217. doi:10.2136/sssaj2011.0135
- Groffman, P.M., Groffman, P.M., Hardy, J.P., Hardy, J.P., Fisk, M.C., Fisk, M.C., Fahey, T.J., Fahey, T.J., Driscoll, C.T., Driscoll, C.T., 2009. Climate variation and soil carbon and nitrogen cycling processes in a northern hardwood forest. *Ecosystems* 12, 927–943. doi:10.1007/s10021-009-9268-y
- Hinsinger, P., Betencourt, E., Bernard, L., Brauman, a., Plassard, C., Shen, J., Tang, X., Zhang, F., 2011. P for two, sharing a scarce resource: Soil phosphorus acquisition in the rhizosphere of intercropped species. *Plant Physiology* 156, 1078–1086. doi:10.1104/pp.111.175331
- Horner-devine, M.C., Bohannan, B.J.M., 2006. Unifying ecology to include all creatures great and small. *Trends in Ecology and Evolution* 21, 5347. doi:10.1016/j.tree.2006.07.008
- Horner-Devine, M.C., Silver, J.M., Leibold, M. a., Bohannan, B.J.M., Colwell, R.K., Fuhrman, J. a., Green, J.L., Kuske, C.R., Martiny, J.B.H., Muyzer, G., Øvreås, L., Reysenbach, A.L., Smith, V.H., 2007. A comparison of taxon co-occurrence patterns for macro- and microorganisms. *Ecology* 88, 1345–1353. doi:10.1890/06-0286
- Jan, M.T., Roberts, P., Tonheim, S.K., Jones, D.L., 2009. Protein breakdown represents a major bottleneck in nitrogen cycling in grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 2272–2282. doi:10.1016/j.soilbio.2009.08.013
- Jensen, E.S., 1996. Rhizodeposition of N by pea and barley and its effect on soil N dynamics. *Soil Biology and Biochemistry* 28, 65–71.
- Jensen, E.S., Peoples, M.B., Boddey, R.M., Gresshoff, P.M., Henrik, H.N., Alves, B.J.R., Morrison, M.J., 2012. Legumes for mitigation of climate change and the provision of feedstock for biofuels and biorefineries. A review, *Agronomy for Sustainable Development*. doi:10.1007/s13593-011-0056-7
- Joergensen, R.G., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1990. Survival of the soil microbial biomass at elevated temperatures. *Soil Biology and Biochemistry* 22, 1129–1136. doi:10.1016/0038-0717(90)90039-3
- Jones, D.L., Kemmitt, S.J., Wright, D., Cuttle, S.P., Bol, R., Edwards, a. C., 2005. Rapid intrinsic rates of amino acid biodegradation in soils are unaffected by agricultural management strategy. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 1267–1275. doi:10.1016/j.soilbio.2004.11.023
- Jones, D.L., Shannon, D., Murphy, D. V, Farrar, J., 2004. Role of dissolved organic nitrogen (DON) in soil N cycling in grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 749–756. doi:10.1016/j.soilbio.2004.01.003
- Kabba, B.S., Aulakh, M.S., 2004. Climatic conditions and crop-residue quality differentially affect N, P, and S mineralization in soils with contrasting P status. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science-Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde* 167, 596–601. doi:10.1002/jpln.200320359
- Klappenbach, J.A., Dunbar, J.M., Schmidt, T.M., 2000. rRNA operon copy number reflects ecological strategies of bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 66, 1328–1334. doi:10.1128/AEM.66.4.1328-1333.2000.Updated
- Knops, J.M.H., Bradley, K.L., Wedin, D.A., 2002. Mechanisms of plant species impacts on ecosystem nitrogen cycling. *Ecology Letters* 5, 454–466. doi:10.1046/j.1461-0248.2002.00332.x
- Koeppel, A., Perry, E.B., Sikorski, J., Krizanc, D., Warner, A., Ward, D.M., Rooney, A.P., Brambilla, E., Connor, N., Ratcliff, R.M., Nevo, E., Cohan, F.M., 2008. Identifying the fundamental units of bacterial diversity: a paradigm shift to incorporate ecology into bacterial systematics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, 2504–2509. doi:10.1073/pnas.0712205105
- Krift, T.A.J. Van Der, Kuikman, P.J., Möller, F., Berendse, F., 2001. Plant species and nutritional-mediated control over rhizodeposition and root decomposition 191–200.

- Kumar, K., Goh, K.M., 2002. Management practices of antecedent leguminous and non-leguminous crop residues in relation to winter wheat yields, nitrogen uptake, soil nitrogen mineralization and simple nitrogen balance. *European Journal of Agronomy* 16, 295–308.
- Kuzyakov, Y., 2002. Review: Factors affecting rhizosphere priming effects. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science-Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde* 165, 382–396. doi:10.1002/1522-2624(200208)165:4<382::AID-JPLN382>3.0.CO;2-#
- Kuzyakov, Y., Xu, X., 2013. Competition between roots and microorganisms for nitrogen: mechanisms and ecological relevance. *New Phytologist* 198, 656–669. doi:10.1111/nph.12235
- Lauber, C.L., Hamady, M., Knight, R., Fierer, N., 2009. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Applied and Environmental Microbiology* 75, 5111–5120. doi:10.1128/AEM.00335-09
- Lawrence, J.G., Retchless, A.C., 2010. The myth of bacterial species and speciation. *Biology and Philosophy* 25, 569–588. doi:10.1007/s10539-010-9215-5
- Legay, N., Personeni, E., Slezacek-Deschaumes, S., Piutti, S., Cliquet, J.B., 2014. Grassland species show similar strategies for sulphur and nitrogen acquisition. *Plant and Soil* 375, 113–126. doi:10.1007/s11104-013-1949-9
- Li, J., Kremer, R.J., 2000. Rhizobacteria associated with weed seedlings in different cropping systems. *Weed Science* 48, 734–741.
- Lilburne, L.R., Webb, T.H., Francis, G.S., 2003. Relative effect of climate, soil, and management on risk of nitrate leaching under wheat production in Canterbury, New Zealand. *AUSTRALIAN JOURNAL OF SOIL RESEARCH* 41, 699–709. doi:10.1071/SR02083
- Lupwayi, N.Z., Clayton, G.W., O'Donovan, J.T., Harker, K.N., Turkington, T.K., Soon, Y.K., 2006. Nitrogen release during decomposition of crop residues under conventional and zero tillage. *Canadian Journal of Soil Science* 86, 11–19. doi:10.1016/j.still.2007.01.007
- Mancinelli, R., Marinari, S., di Felice, V., Savin, M.C., Campiglia, E., 2013. Soil property , CO₂ emission and aridity index as agroecological indicators to assess the mineralization of cover crop green manure in a Mediterranean environment. *Ecological Indicators* 34, 31–40. doi:10.1016/j.ecolind.2013.04.011
- Milberg, P., Hallgren, E., Palmer, M.W., 2000. Interannual variation in weed biomass on arable land in Sweden. *Weed Research* 40, 311–321. doi:10.1046/j.1365-3180.2000.00190.x
- Mishra, S., Di, H.J., Cameron, K.C., Monaghan, R., Carran, A., 2005. Gross nitrogen mineralisation rates in pastoral soils and their relationships with organic nitrogen fractions, microbial biomass and protease activity under glasshouse conditions. *Biology and Fertility of Soils* 42, 45–53. doi:10.1007/s00374-005-0863-6
- Mouquet, N., Devictor, V., Meynard, C.N., Munoz, F., Bersier, L.F., Chave, J., Couteron, P., Dalecky, A., Fontaine, C., Gravel, D., Hardy, O.J., Jabot, F., Laverne, S., Leibold, M., Mouillot, D., Münkemüller, T., Pavoine, S., Prinzing, A., Rodrigues, A.S.L., Rohr, R.P., Thébault, E., Thuiller, W., 2012. Ecophylogenetics: Advances and perspectives. *Biological Reviews* 87, 769–785. doi:10.1111/j.1469-185X.2012.00224.x
- Nannipieri, P., Giagnoni, L., Renella, G., Puglisi, E., Ceccanti, B., Masciandaro, G., Fornasier, F., Moscatelli, M.C., Marinari, S., 2012. Soil enzymology : classical and molecular approaches. *Biology and Fertility of Soils* 48, 743–762. doi:10.1007/s00374-012-0723-0
- Nannipieri, P., Kandeler, E., Ruggiero, P., 2002. Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil., in: Burns, R.G., Dick, R.P. (Eds.), *Enzymes in the Environment: Activity, Ecology, and Applications*. Marcel Dekker, Inc, New York, pp. 1–33.
- Navas, M.-L., 2012. Trait-based approaches to unravelling the assembly of weed communities and their impact on agro-ecosystem functioning. *Weed Research* 52, 479–488. doi:10.1111/j.1365-3180.2012.00941.x
- Nguyen, C., 2003. Rhizodeposition of organic C by plants : mechanisms and controls. *Agronomie* 23, 375–396. doi:10.1051/agro

- Orwin, K.H., Buckland, S.M., Johnson, D., Turner, B.L., Smart, S., Oakley, S., Bardgett, R.D., 2010. Linkages of plant traits to soil properties and the functioning of temperate grassland. *Journal of Ecology* 98, 1074–1083. doi:10.1111/j.1365-2745.2010.01679.x
- Pérez-ramos, I.M., Roumet, C., Cruz, P., Blanchard, A., Autran, P., Garnier, E., 2012. Evidence for a “ plant community economics spectrum ” driven by nutrient and water limitations in a Mediterranean rangeland of southern France. *Journal of Ecology* 100, 1315–1327. doi:10.1111/1365-2745.12000
- Perronne, R., Gaba, S., Cadet, E., Le Corre, V., 2014. The interspecific and intraspecific variation of functional traits in weeds: diversified ecological strategies within arable fields. *Acta Botanica Gallica* 161, 243–252. doi:10.1080/12538078.2013.868320
- Pierce, S., Brusa, G., Vagge, I., Cerabolini, B.E.L., 2013. Allocating CSR plant functional types: the use of leaf economics and size traits to classify woody and herbaceous vascular plants. *Functional Ecology* 27, 1002–1010. doi:10.1111/1365-2435.12095
- Poggio, S.L., 2005. Structure of weed communities occurring in monoculture and intercropping of field pea and barley. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 109, 48–58. doi:10.1016/j.agee.2005.02.019
- Poorter, H., Sack, L., 2012. Pitfalls and possibilities in the analysis of biomass allocation patterns in plants. *Frontiers in Plant Science* 3, 1–10. doi:10.3389/fpls.2012.00259
- Ranjan, K., Paula, F.S., Mueller, R.C., Jesus, E.D.C., Cenciani, K., Bohannan, B.J.M., Nüsslein, K., Rodrigues, J.L.M., 2015. Forest-to-pasture conversion increases the diversity of the phylum Verrucomicrobia in Amazon rainforest soils. *Frontiers in Microbiology* 6, 1–9. doi:10.3389/fmicb.2015.00779
- Rasmussen, P.E., Douglas, C.L., Collins, H.P., Albrecht, S.L., 1998. Long-term cropping system effects on mineralizable nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 30, 1829–1837. doi:10.1016/S0038-0717(98)00057-1
- Riffaldi, R., Saviozzi, A., Cardelli, R., Cipolli, S., Levi-Minzi, R., 2006. Sulphur mineralization kinetics as influenced by soil properties. *Biology and Fertility of Soils* 22, 293–298.
- Robinson, C.H., 2002. Controls on decomposition and soil nitrogen availability at high latitudes. *Plant and Soil* 242, 65–81. doi:10.1023/A:1019681606112
- Roumet, C., Lafont, F., Sari, M., Warembourg, F., Garnier, E., 2008. Root traits and taxonomic affiliation of nine herbaceous species grown in glasshouse conditions. *Plant and Soil* 312, 69–83. doi:10.1007/s11104-008-9635-z
- Salon, C., Munier-Jolain, N.G., Duc, G., Voisin, A., Grandgirard, D., Larmure, A., Emery, R.J.N., Ney, B., 2001. Grain legume seed filling in relation to nitrogen acquisition : A review and prospects with particular reference to pea. *Agronomie* 21, 539–552.
- Sardans, J., Peñuelas, J., 2005. Drought decreases soil enzyme activity in a Mediterranean Quercus ilex L. forest. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 455–461. doi:10.1016/j.soilbio.2004.08.004
- Šarūnaitė, L., Deveikytė, I., Arlauskienė, A., Kadžiulienė, Ž., Maiksetienė, S., 2013. Pea and spring cereal intercropping systems : Advantages and suppression of broad-leaved weeds. *Polish Journal of Environmental Studies* 22, 541–551.
- Saunders, M., Glenn, A.E., Kohn, L. M., 2010. Exploring the evolutionary ecology of fungal endophytes in agricultural systems: using functional traits to reveal mechanisms in community processes. *Evolutionary Applications* 3, 525–537
- Schimel, J.P., Bennett, J., 2004. Nitrogen mineralization: Challenges of a changing paradigm. *Ecology* 85, 591–602.
- Schippers, P., Olff, H., 2000. Biomass partitioning, architecture and turnover from habitats with different nutrient supply of six herbaceous species. *Plant Ecology* 149, 219–231.
- Scott, N. a., Binkley, D., 1997. Foliage litter quality and annual net N mineralization: Comparison across North American forest sites. *Oecologia* 111, 151–159. doi:10.1007/s004420050219
- Serna-Chavez, H.M., Fierer, N., Van Bodegom, P.M., 2013. Global drivers and patterns of microbial abundance in soil. *Global Ecology and Biogeography* 22, 1162–1172. doi:10.1111/geb.12070

- Singh, V., Singh, H., 2012. Leaf construction cost and related ecophysiological parameters of rice crop and its important weeds. *Rice Science* 19, 233–240. doi:10.1016/S1672-6308(12)60045-6
- Stegen, J.C., Lin, X., Konopka, A.E., Fredrickson, J.K., 2012. Stochastic and deterministic assembly processes in subsurface microbial communities. *The ISME Journal* 6, 1653–1664. doi:10.1038/ismej.2012.22
- Stevenson, F.C., van Kessel, C., 1996. A landscape-scale assessment of the nitrogen and non-nitrogen benefits of pea in a crop rotation. *Soil Science Society of America Journal* 60, 1797–1805.
- Taureau, J.C., Thevenet, G., Bordeaux, J.L., Defroberville, G., 1987. Réponses des cultures à la fertilisation soufrée, une méthode d'approche : le cas du blé d'hiver en terres de Groie étudié en 1986. *Perspectives Agricoles* 23–43.
- Tjoelker, M.G., Craine, J.M., Wedin, D., Reich, P.B., Tilman, D., 2005. Linking leaf and root trait syndromes among 39 grassland and savannah species. *New Phytologist* 167, 493–508. doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01428.x
- Torner, C., Sanchez del Arco, M.J., Satorre, E., Fernandez-Quintanilla, C., 2000. A comparison of the growth patterns and the competitive ability of four annual weeds. *Agronomie* 20, 147–156. doi:10.1051/agro:2000115
- Usselman, S.M., Qualls, R.G., Thomas, R.B., 2000. Effects of increased atmospheric CO₂, temperature, and soil N availability on root exudation of dissolved organic carbon by a N-fixing tree (*Robinia pseudoacacia* L.). *Plant and Soil* 222, 191–202.
- Valverde-Barrantes, O.J., Smemo, K.A., Feinstein, L.M., Kershner, M.W., Blackwood, C.B., 2013. The distribution of below-ground traits is explained by intrinsic species differences and intraspecific plasticity in response to root neighbours. *Journal of Ecology* 101, 933–942
- Vanegas, J., Landazabal, G., Melgarejo, L.M., Beltran, M., Uribe-Vélez, D., 2013. Structural and functional characterization of the microbial communities associated with the upland and irrigated rice rhizospheres in a neotropical Colombian savannah. *European Journal of Soil Biology* 55, 1–8. doi:10.1016/j.ejsobi.2012.10.008
- Voisin, A.-S., Salon, C., Jeudy, C., Warembourg, F.R., 2003. Symbiotic N₂ fixation activity in relation to C economy of *Pisum sativum* L. as a function of plant phenology. *Journal of Experimental Botany* 54, 2733–44. doi:10.1093/jxb/erg290
- Voisin, A.-S., Bourion, V., Duc, G., Salon, C., 2007. Using an ecophysiological analysis to dissect genetic variability and to propose an ideotype for nitrogen nutrition in pea. *Annals of Botany* 100, 1525–1536. doi:10.1093/aob/mcm241
- Vong, P., Dedourge, O., Lasserre-Joulin, F., Guckert, A., 2003. Immobilized-S, microbial biomass-S and soil arylsulfatase activity in the rhizosphere soil of rape and barley as affected by labile substrate C and N additions. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 1651–1661. doi:10.1016/j.soilbio.2003.08.012
- Vong, P., Piutti, S., Slezack-Deschaumes, S., Benizri, E., Guckert, A., 2008. Sulphur immobilization and arylsulphatase activity in two calcareous arable and fallow soils as affected by glucose additions. *Geoderma* 148, 79–84. doi:10.1016/j.geoderma.2008.09.008
- Vranova, V., Rejsek, K., Formanek, P., 2013. Proteolytic activity in soil : A review. *Applied Soil Ecology* 70, 23–32. doi:10.1016/j.apsoil.2013.04.003
- Vries, F.T. de, Manning, P., Tallowin, J.R.B., Mortimer, S.R., Pilgrim, E.S., Harrison, K.A., Hobbs, P.J., Quirk, H., Shipley, B., Cornelissen, J.H.C., Kattge, J., Bardgett, R.D., 2012. Abiotic drivers and plant traits explain landscape-scale patterns in soil microbial communities. *Ecology Letters* 15, 1230–1239. doi:10.1111/j.1461-0248.2012.01844.x
- Wahl, S., Ryser, P., 2000. Root tissue structure is linked to ecological strategies of grasses. *New Phytologist* 148, 459–471.
- Wichern, F., Eberhardt, E., Mayer, J., Joergensen, R.G., Müller, T., 2008. Nitrogen rhizodeposition in agricultural crops: Methods, estimates and future prospects. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 30–48. doi:10.1016/j.soilbio.2007.08.010

- Wichern, F., Mayer, J., Joergensen, R.G., Müller, T., 2007. Release of C and N from roots of peas and oats and their availability to soil microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 2829–2839. doi:10.1016/j.soilbio.2007.06.006
- Wright, I.J., Reich, P.B., Westoby, M., Ackerly, D.D., Baruch, Z., Bongers, F., Cavender-bares, J., Chapin, T., Cornelissen, J.H.C., Diemer, M., Flexas, J., Garnier, E., Groom, P.K., Gulias, J., 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* 428, 821–827.
- Wu, Y., Yu, X., Wang, H., Ding, N., Xu, J., 2010. Does history matter? Temperature effects on soil microbial biomass and community structure based on the phospholipid fatty acid (PLFA) analysis. *Journal of Soils and Sediments* 10, 223–230. doi:10.1007/s11368-009-0118-5
- Xuan, D.T., Guong, V.T., Rosling, A., Alström, S., Chai, B., Högborg, N., 2012. Different crop rotation systems as drivers of change in soil bacterial community structure and yield of rice, *Oryza sativa*. *Biology and Fertility of Soils* 48, 217–225. doi:10.1007/s00374-011-0618-5
- Yuan, L., Bao, D.J., Jin, Y., Yang Y.H., Huang, J.G., 2011. Influence of fertilizers on nitrogen mineralization and utilization in the rhizosphere of wheat. *Advances in Agronomy* 343, 187–193. doi:10.1007/s11104-010-0640-7
- Zaman, M., Di, H.J., Cameron, K.C., Frampton, C.M., 1999. Gross nitrogen mineralization and nitrification rates and their relationships to enzyme activities and the soil microbial biomass in soils treated with dairy shed effluent and ammonium fertilizer at different water potentials. *Biology and Fertility of Soils* 29, 178–186. doi:10.1007/s003740050542
- Zhang, N., Liu, W., Yang, H., Yu, X., Gutknecht, J.L.M., Zhang, Z., Wan, S., Ma, K., 2013. Soil microbial responses to warming and increased precipitation and their implications for ecosystem C cycling. *Oecologia* 173, 1125–1142. doi:10.1007/s00442-013-2685-9

Annexes

Annexe 1

Enjeux et contributions des prairies temporaires pour améliorer la fertilité des sols

S. Piutti, N. Romillac, A. Chanseume, S. Slezack-Deschaumes, V. Manneville, B. Amiaud

Fourrages (2015) 223, 179-187

Enjeux et contributions des prairies temporaires pour améliorer la fertilité des sols

S. Piutti^{1,2}, N. Romillac^{1,2}, A. Chanseaux^{1,2,3}, S. Slezack-Deschaumes^{1,2}, V. Manneville³, B. Amiaud^{4,5}

Le concept de fertilité des sols et le rôle joué par la matière organique ont beaucoup évolué. Un rapide retour historique souligne les enjeux du maintien de la fertilité des sols et les pratiques de gestion des prairies dans cette optique.

RÉSUMÉ

Le concept de fertilité des sols a évolué depuis l'Antiquité. Actuellement, sa définition s'appuie sur la notion de composantes fonctionnelles, à la fois chimiques, biologiques et physiques. Dans cette conception, la matière organique des sols est un pilier central de la fertilité et les micro-organismes du sol sont des acteurs majeurs permettant la libération d'éléments minéraux pour répondre aux besoins des plantes cultivées. Dans un contexte d'amélioration de la durabilité des systèmes de culture, l'intégration des prairies temporaires et/ou artificielles dans la rotation permet à court terme d'améliorer le rendement des cultures suivantes mais aussi de modifier la quantité et/ou la qualité des matières organiques et d'influencer à moyen terme les propriétés biologiques des sols.

SUMMARY

Using temporary pastures to enhance soil fertility

The definition of soil fertility has shifted through time; it is currently based on the idea of functional components that are chemical, biological, and physical in nature. According to this modern definition, a soil's organic matter content is a key component of its fertility, and soil microorganisms play a major role in releasing minerals that crops can use to meet their needs. As efforts are made to increase the sustainability of crop systems, incorporating temporary and/or artificial pastures into the rotation cycle may help increase crop yields in the short term. It can also change the levels and/or quality of soil organic matter and, in the intermediate term, influence a soil's biological properties.

1. Définition de la fertilité des sols

Les évolutions du concept de fertilité au cours de l'histoire

Les premières mentions dans la littérature du terme de fertilité du sol sont très anciennes et correspondent à certaines caractéristiques d'une conception de la fertilité des sols qui initialement portaient sur le côté spirituel de

la nature (PATZEL *et al.*, 2000). Dans la mythologie grecque, les dieux chthoniens assurent deux fonctions essentielles dans la vie des hommes : ils assurent la richesse du sol et ils règnent sur le royaume des morts. Dans ce contexte, à en juger par les divinités présentes dans les différentes civilisations (Demeter, Ceres...), le sol est souvent regardé comme un élément féminin qui porte la vie et protège les processus vitaux. De l'Antiquité jusque vers 1840, cette aptitude du sol à produire a été apparentée au terme de fécondité renvoyant implicitement au

AUTEURS

1 : Université de Lorraine, Laboratoire Agronomie et Environnement, UMR 1121, TSA 40602, F-54518 Vandœuvre cedex ; severine.piutti@univ-lorraine.fr

2 : INRA, Laboratoire Agronomie et Environnement, UMR 1121, TSA 40602, F-54518 Vandœuvre cedex

3 : Institut de l'Élevage, 9, allée Pierre de Fermat, Service Environnement, F-63170 Aubière

4 : Université de Lorraine, UMR 1137, Ecologie et Ecophysiologie Forestière, F-54500 Vandœuvre-lès-Nancy

5 : INRA, UMR 1137, Ecologie et Ecophysiologie Forestière, F-54280 Champenoux

MOTS CLÉS : Agriculture durable, Carbone, évolution, fertilité du sol, histoire, matière organique, micro-organisme, prairie, production agricole, rotation culturale, sol, système de production.

KEY-WORDS : Agricultural production, Carbon, change in time, crop succession, grassland, History, microorganism, organic matter, production system, soil, soil fertility, sustainable agriculture.

RÉFÉRENCE DE L'ARTICLE : Piutti S., Romillac N., Chanseaux A., Slezack-Deschaumes S., Manneville V., Amiaud B. (2015) : "Enjeux et contributions des prairies temporaires pour améliorer la fertilité des sols", *Fourrages*, 223, 179-187.

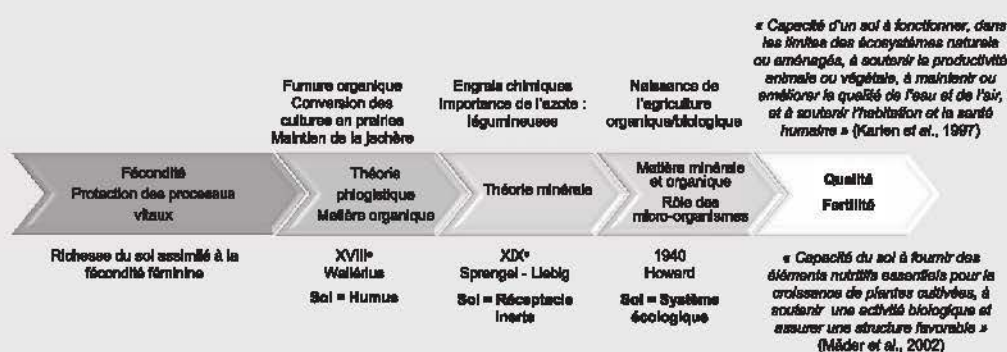


FIGURE 1 : Evolution du concept de fertilité au travers des âges.

FIGURE 1 : Changes in the definition of soil fertility across the centuries.

1761, dans les travaux du suédois WALLERIUS (cité par WAKSMAN, 1942). Selon cette théorie, la matière organique du sol, ou l'humus du sol, était considérée comme la principale source de la fertilité des sols. Les racines des plantes sont alors soupçonnées d'extraire l'humus du sol pour le transformer en substance végétale, en le combinant avec de l'eau. Partant de ce postulat, THAER fut le

selon trois moyens : i) l'utilisation de fumures organiques, ii) la conversion des terres cultivées en prairies, iii) l'installation d'une jachère pendant l'interculture estivale (THAER, cité par FELLER et al., 2003). Ces trois piliers sont indissociables encore aujourd'hui de certains systèmes d'exploitation qui s'appuient essentiellement sur la fertilité organique des sols (biodynamie, agriculture

Définition	Référence	Commentaires
"The capacity of soil to produce the crop desired"	COOKE, 1967	La notion de fertilité est liée à la capacité de production
"De tous temps la fertilité des sols a été une préoccupation liée à la mise en valeur par l'homme du milieu naturel et à son exploitation pour satisfaire certains de ses besoins"	SEBILLOTE, 1989	La notion de fertilité reste floue et appartient plus au langage courant que scientifique
"The ability of the land to produce and reproduce; its capacity to support the growth of plants over time, under given climate and other relevant conditions"	INGRAM, 1990	Prise en compte des conditions environnementales
"Facilité avec laquelle, pendant toute la durée de la culture, le système racinaire peut bénéficier à partir de ce sol en quantité suffisante et au moment opportun des différents facteurs de la croissance végétale (chaleur, eau, éléments minéraux, matière organique) et avoir une croissance suffisante pour prospecter de nouvelles zones du sol non appauvries"	MOREL, 1996	La notion de fertilité est centrée sur les conditions qui favorisent la croissance et l'activité du système racinaire
"La capacité du sol à assurer durablement la productivité primaire d'un écosystème"	TRICHET et al., 1999	Ecosystème forestier. Approche temporelle de la fertilité
"A fertile soil provides essential nutrients for crop plant growth, supports a diverse and active biotic community, exhibits a typical soil structure, and allows for an undisturbed decomposition"	MADER et al., 2002	Cette définition correspond à celle sur laquelle s'appuient les systèmes en agriculture biologique
"The capacity of soil to produce a large harvest"	AUGUSTO et al., 2002	Ecosystèmes forestiers
"The ability of a soil to serve as a suitable substrate on which plants can grow and develop in a sustainable way"	IZAG, 2003	Systèmes agroforestiers
"The capacity of soil to provide physical, chemical and biological requirements for growth of plants for productivity, reproduction and quality (considered in terms of human and animal wellbeing for plants used as either food or fodder) relevant to plant type, soil type, land use and climatic conditions"	ABBOTT et MURPHY, 2003	La notion de fertilité s'apparente à la notion de qualité des sols avec les composantes chimique, physique et biologique

TABLEAU 1 : Exemples de définitions de la fertilité des sols.

Table 1 : Various examples of definitions of soil fertility.

biologique...). Indépendamment du soutien de cette théorie de l'humus par les premiers chimistes, une opposition à cette théorie allait être émise par plusieurs auteurs. SPRENGEL (cité par MANLAY *et al.*, 2007) fut le premier à remettre en question la théorie en attribuant peu de valeur nutritive à la matière organique et en suggérant que les éléments minéraux des plantes proviennent de l'extérieur. En 1840, LIEBIG (cité par MANLAY *et al.*, 2007) montre que les plantes peuvent se développer sans composés organiques et avance que d'autres substances (i.e. éléments minéraux) peuvent remplacer la fumure organique. À la « théorie phlogistique » a ainsi succédé la « théorie minérale », selon laquelle la gestion de la fertilité des sols peut être basée uniquement sur les apports d'éléments minéraux. Il s'agit dès lors de l'avènement de l'agrochimie qui a conduit au développement d'un modèle agricole où le sol constitue un support inerte, réceptacle d'éléments chimiques dans lequel les plantes se nourrissent. L'acceptation de cette théorie minérale conduit à la mise sous silence de la théorie de l'humus puisque les deux concepts ne pouvaient pas coexister. Cette situation se poursuit jusqu'en 1940, lorsque HOWARD (1943) affirme que la préservation de la matière organique des sols est essentielle pour préserver la productivité agricole car le recyclage permanent de la matière organique couplé à l'altération minérale de la roche-mère peut maintenir la fertilité des sols. Sa vision des sols en tant que système écologique dans lequel les micro-organismes constituent un pont entre l'humus et la plante permet de remettre la matière organique au cœur de la fertilité des sols en tant qu'effecteur de fonctions susceptibles de libérer des nutriments pour la plante.

De la fertilité à la qualité des sols

La fertilité correspond à la capacité d'un sol à pro-

agricole (JANSSON, 1967). La recherche actuelle de définition précise de ce terme communément utilisé depuis plusieurs siècles laisse néanmoins toujours apparaître que cette notion appartient plus au langage courant que scientifique (PATZEL *et al.*, 2000) et que de nombreuses définitions coexistent (tableau 1).

À partir des années 1990 (figure 1), le concept de qualité des sols commence à émerger dans la littérature scientifique. Dès lors, ces deux concepts, fertilité et qualité des sols, vont évoluer l'un vers l'autre, voire se rejoindre complètement. Selon KARLEN *et al.*, 1992, la qualité des sols est définie comme « l'aptitude du sol à servir de milieu naturel pour la croissance des plantes nécessaires à la vie des animaux et des hommes ». Cette première définition de la qualité des sols qui pouvait s'apparenter à la définition communément déclinée de la fertilité des sols a été élargie avec une prise en compte de l'ensemble des fonctions écologiques du sol. Il s'agit ainsi de la « capacité d'un type de sol spécifique à fonctionner, dans les limites des écosystèmes naturels ou aménagés, à soutenir la productivité animale ou végétale, à maintenir ou améliorer la qualité de l'eau et de l'air, et à soutenir l'habitation et la santé humaine » (KARLEN *et al.*, 1997). La Société de Science du Sol Américaine (SSSA) définit la fertilité d'un sol comme « la qualité d'un sol lui permettant de fournir des éléments nutritifs en quantités adéquates et équilibrées entre elles pour assurer la croissance de plantes ou de cultures données ». Ainsi, la définition retenue *in fine* pour la fertilité des sols utilise le terme qualité du sol en lieu et place des termes « capacité » ou « potentialité » du sol, utilisés précédemment (COOKS, 1967) de façon à considérer simultanément l'ensemble des fonctions attribuées aux sols, la fertilité n'étant que l'une des fonctions des sols parmi d'autres (figure 2). Si cet élargissement de la définition de fertilité permet une prise en compte des fonctions du sol jusqu'alors négligées, voire

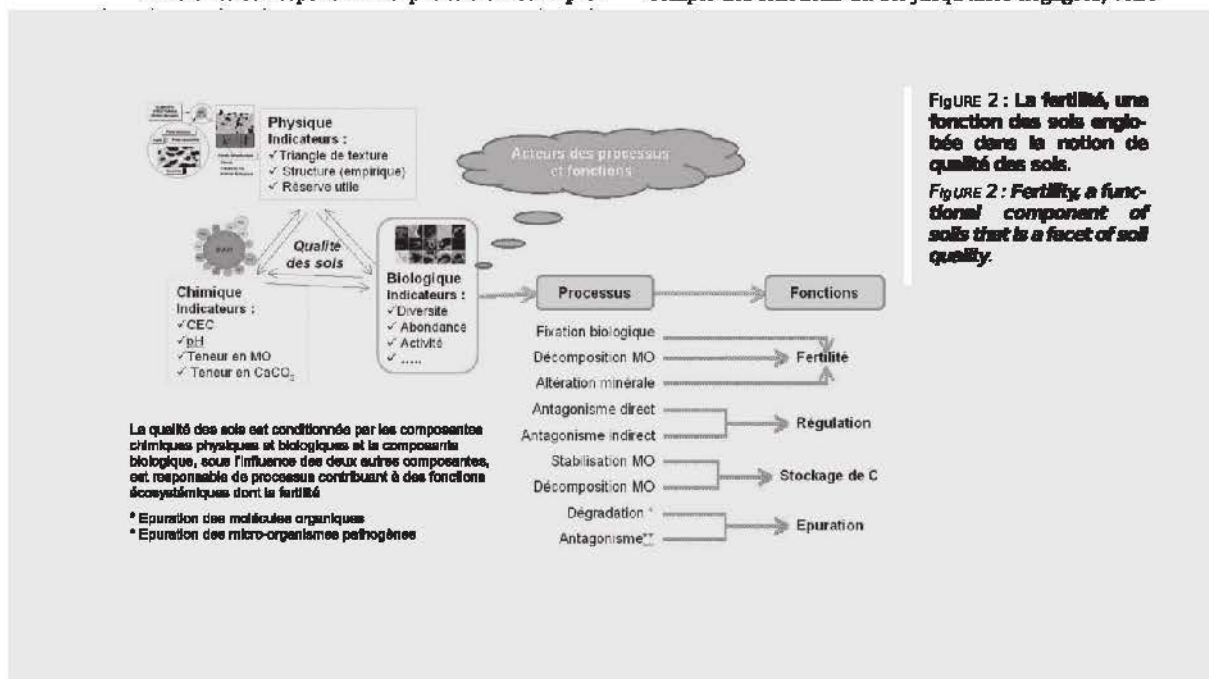


FIGURE 2 : La fertilité, une fonction des sols englobée dans la notion de qualité des sols.

FIGURE 2 : Fertility, a functional component of soils that is a facet of soil quality.

S. Piutti et al.

écologiques contribuant à des services écosystémiques (Millennium Ecosystem Assessment) correspond à une vision anthropocentrée de la nature.

Quelle considération de la fertilité dans l'évolution des systèmes agricoles ?

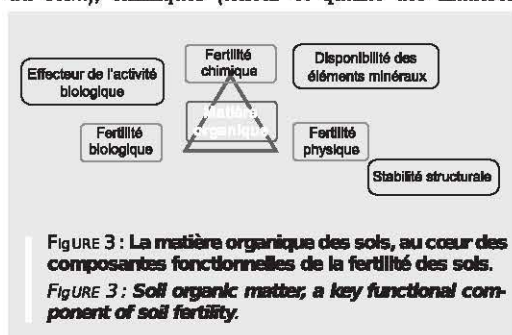
Si la fertilité correspond à un potentiel de production agricole pour un sol, son expression dépend i) des conditions environnementales (INGRAM, 1990) et ii) des pratiques agricoles mises en œuvre dans l'agrosystème. Selon FARDEAU (2006), la fertilité intrinsèque des sols rend compte actuellement de 20 à 25 % du rendement et les pratiques agricoles (énergie, engrais, pesticides...) rendent compte de 75 à 80 %. C'est ainsi qu'à l'échelle mondiale sur la période 1960-2000, la production mondiale de céréales a été multipliée par deux alors que, dans le même temps, l'utilisation d'engrais azoté a été multipliée par sept (TILMAN et al., 2002). Pendant cette période, la productivité des céréales est devenue beaucoup plus dépendante des engrais que de la fertilité intrinsèque des sols. Dans le contexte actuel de recherche de durabilité des systèmes de production agricole au travers notamment d'une intensification des fonctions écologiques des agroécosystèmes, FONTE et al. (2012) utilisent une définition intégrée de la fertilité des sols qui considère aussi bien la disponibilité des nutriments que le fonctionnement du sol et les services écosystémiques qu'il fournit. Si les plantes absorbent des éléments minéraux pour leur croissance et développement, la fertilité ne doit pas être réduite à une quantification du pool d'éléments nutritifs assimilables indépendamment de la prise en compte des processus contribuant à l'évolution de la taille de ce compartiment. Aussi, afin de ne pas se contenter d'une vision statique de la fertilité, il est indispensable d'introduire la notion de composantes fonctionnelles, chimique (fourniture des éléments nutritifs disponibles en quantité suffisantes), biologique (abondance, diversité et activité des êtres vivants) et physique de la fertilité (ABBOTT et MURPHY, 2003). Dans cette conception, la matière organique des sols devient alors un pilier central de la fertilité et de la durabilité des systèmes de culture (MANLAY et al., 2007 ; figure 3).

La fertilité résulte d'un ensemble de processus biologiques conditionnés par des facteurs physiques (structure du sol...), chimiques (teneur et qualité des matières

organiques, pH, capacité d'échange cationique...), climatiques permettant d'influencer la dynamique des matières organiques et de ce fait les quantités de nutriments mises à disposition pour la plante (STOCKDALE et al., 2002 ; MARSCHNER et KALBITZ, 2003). D'un point de vue qualitatif, la matière organique peut être caractérisée notamment par des méthodes de fractionnement qui visent à déterminer la taille et la stabilité des différentes fractions (VON LÜTZOW et al., 2007). La décomposition/minéralisation des matières organiques du sol est une fonction majeure qui résulte d'une infinité de processus (activités enzymatiques diverses...). Sachant que la décomposition est essentiellement assurée par la biomasse microbienne, des modèles récents de décomposition des matières organiques introduisent des paramètres microbiens comme la taille et le turnover du pool d'enzymes du sol responsables de la décomposition et de la production de biomasse microbienne (SCHIMMEL et WEINTRAUB, 2003).

Les pratiques agricoles en système conventionnel sont essentiellement axées sur la composante chimique de la fertilité en recherchant notamment des rendements maximaux via une fertilisation minérale et/ou organique soutenue ciblée sur les besoins de la plante et négligeant souvent les pratiques agricoles susceptibles de maximiser les fournitures du sol via ses fonctions écologiques. Dans les systèmes en agriculture biologique, l'entretien de la fertilité repose principalement sur l'utilisation de matières organiques d'origine animale (fumier) ou végétale (compost), sur la culture d'engrais verts et l'introduction de légumineuses dans les rotations. La fertilité est ainsi le résultat de processus biologiques et non de la seule présence d'éléments chimiques. La durabilité, en matière de fertilité, sera assurée pour autant que les fonctions écologiques majeures du sol soient favorisées par des pratiques agricoles appropriées.

Le levier majeur pour préserver la fertilité dans ces systèmes est de réintégrer les prairies temporaires et/ou artificielles comme élément central de la rotation culturale. L'intégration de la prairie dans la rotation permet i) de réduire le travail du sol qui peut être à l'origine d'une décomposition accrue de matière organique, d'une réduction de la structure du sol et d'une perte de biodiversité, ii) d'assurer une entrée continue de carbone dans le sol notamment au travers de la litière et de l'activité du système racinaire (rhizodéposition et turnover), ce carbone étant essentiel pour la croissance des micro-organismes impliqués dans les processus de décomposition/minéralisation. En dépit des nombreux enjeux agronomiques et environnementaux sous-jacents, l'intégration de la prairie temporaire en rotation dans les systèmes de culture français reste encore marginale à l'heure actuelle. Ainsi, en France, au sein des exploitations qui exercent une activité d'élevage, la rotation céréales à paille - maïs - prairie temporaire ne représente que 13 % des rotations. Pour les exploitations en systèmes céréaliers si, en agriculture biologique, la prairie temporaire est une tête de rotation très présente (64 % des surfaces), elle ne représente que 16 % des surfaces en agriculture conventionnelle (AGRESSE, Rapport 2014).



2. Quelles contributions de la prairie temporaire et/ou artificielle à la fertilité des sols ?

La fertilité correspond à un potentiel de production agricole pour un sol mais son expression dépend des conditions environnementales et des pratiques agricoles mises en œuvre ; c'est pourquoi de nombreux essais ont été conduits sur différents continents afin d'analyser les effets de l'introduction de la prairie temporaire en rotation sur le rendement des cultures suivantes (pour revue : RUSSEL, 1977 ; JOHNSTON *et al.*, 2009 ; FRANZLUEBBERS *et al.*, 2014). Les effets dépendent à la fois de la nature des sols, de l'utilisation des engrais minéraux, de la teneur en matière organique, des espèces prairiales implantées (présence ou non de légumineuses) et du nombre d'années de rotations effectuées incluant la prairie temporaire.

Impact de l'intégration de la prairie dans la rotation sur la teneur en matière organique des sols

Il existe de grandes disparités de teneur en matière organique à l'échelle du territoire français. La matière organique est traditionnellement importante dans les zones d'élevage présentant des surfaces en prairies importantes et des apports réguliers d'effluents organiques. Dans les régions de grandes cultures françaises, l'intensification des pratiques culturales en lien avec une simplification des systèmes a conduit à une diminution des taux de matières organiques du sol (FARDEAU *et al.*, 1988). Il existe ainsi un gradient selon le mode d'occupation des sols et, pour les sols cultivés, selon la spécialisation des systèmes d'exploitation. Une analyse de l'évolution des systèmes de culture depuis 1970 montre que la diminution des surfaces de prairies tant permanentes que temporaires, au profit de cultures annuelles et notamment du maïs fourrager, explique en partie les diminutions de teneur en matière organique des sols français (BALESDENT, 1996). Cette tendance est amplifiée par l'abandon de l'élevage dans certaines régions, réduisant de ce fait les retours de carbone au sol sous forme d'effluents d'élevage.

La teneur en matière organique des sols dépend à la fois des quantités de carbone organique restituées au sol (*i.e.* entrées) et de la vitesse de décomposition de la matière organique (*i.e.* les sorties). Les agriculteurs peuvent utiliser différentes voies d'entrée de carbone organique dans les sols cultivés, notamment la restitution des résidus de culture, l'épandage d'effluents d'élevage ou la diversification de la rotation avec intégration de la prairie temporaire (RUSSEL, 1977). Le remplacement des prairies par des cultures de maïs ensilage dans certaines régions comme la Lorraine ou la Bretagne a ainsi réduit considérablement les restitutions de carbone du fait d'une exportation de la quasi-totalité de la biomasse aérienne. L'augmentation de la vitesse de décomposition est notamment liée à la récurrence du labour, la suppression de la prairie de la rotation, l'absence d'engrais organiques et/ou engrais verts et le changement climatique (LOVELAND et WEBB, 2003).

À l'échelle des systèmes de production, l'intégration de la prairie (temporaire et/ou artificielle) en rotation avec les cultures fourragères et/ou les cultures de rente apparaît ainsi comme un levier susceptible d'agir positivement sur la matière organique des sols et donc sur la fertilité. La teneur en matière organique est généralement supérieure dans les rotations avec prairie temporaire (RUSSEL, 1977 ; LOVELAND et WEBB, 2003 ; VAN EEKEREN *et al.*, 2008 ; JOHNSTON *et al.*, 2009 ; GRIFFITHS *et al.*, 2010 ; FRANZLUEBBERS *et al.*, 2014) à celle des rotations de cultures annuelles. Le passage d'une culture annuelle à une végétation pérenne, qui s'accompagne d'une suppression du travail du sol, favorise le stockage de carbone, du fait d'apports de carbone plus élevés, d'une incorporation accrue par voie racinaire et d'une stabilisation des agrégats du sol qui protège la matière organique (BALESDENT *et al.*, 2000). La quantité de résidus de récolte sous une prairie temporaire de graminées et trèfles est en moyenne trois fois plus importante que sous une culture de céréales. Néanmoins, l'ordre de grandeur de ces augmentations de matière organique dépend de la texture des sols (tableau 2, d'après LOVELAND et WEBB, 2003) et de la durée de la rotation (VERTES *et al.*, 2005).

LIU *et al.* (2006) ont fait une synthèse des effets de la diversification de la rotation sur les teneurs en carbone

Texture du sol	Sols cultivés			Prairies temporaires			Prairies permanentes exploitées		
	n°	Moyenne	Extrêmes	n°	Moyenne	Extrêmes	n°	Moyenne	Extrêmes
Argileuse	290	3,38	1,2-9,9	72	4,3	1,3-10,9	208	5,45	1,3-10,9
Limoneuse :									
- Limons grossiers	430	1,97	0,5-8,1	125	3,05	0,9-9,0	281	4,06	1,1-11,9
- Limons fins	651	2,60	0,5-10,9	306	3,51	1,0-12,0	631	4,34	1,1-11,5
Sableuse	75	1,75	0,4-9,1	7	2,29	0,7-4,5	28	2,59	0,8-5,4
Sol tourbeux	54	19,75	12,1-58,4	12	20,98	12,2-49,2	54	20,81	12,2-52,7

* n : nombre de sols considérés

TABEAU 2 : Teneurs en carbone organique (en %, sol tamisé à 2 mm) de sols anglais et gallois en fonction du mode d'occupation et de la texture (d'après LOVELAND et WEBB, 2003).

TABLE 2 : Soil organic carbon content (in <2 mm air-dried soil) of soils in England and Wales subject to different land uses and belonging to different soil texture groups (after LOVELAND and Webb, 2003).

S. Piutti et al.

dans les sols agricoles. Ces auteurs soulignent deux points majeurs :

- La diversification de la rotation permet d'alterner les quantités et qualités biochimiques (ratio carbone/azote, composition) des litières. Dans leur méta-analyse, West et Post (2002) montrent ainsi que la teneur en carbone organique des sols est plus élevée dans les parcelles de blé en rotation qu'en monoculture. Dans le cas d'une luzerne introduite sur plusieurs années, les niveaux de teneur en carbone organique du sol atteints sont plus importants que ceux mesurés en monoculture de maïs (YANG et KAY, 2001). L'introduction de légumineuses modifie la teneur en carbone des sols notamment en augmentant la teneur en carbone labile du sol (BLAIR et CROCKER, 2000). Ce pool labile, essentiel pour la fourniture d'éléments nutritifs *via* les processus de minéralisation, se reconstitue au cours du cycle de développement des cultures au travers du retour de matière organique sous forme de résidus ou de rhizodépôts.

- De manière très prévisible, la teneur en azote total du sol augmente sous les rotations contenant des prairies temporaires en fonction de la matière organique puisque la majorité de l'azote du sol est sous forme organique. Cet effet est renforcé en présence de légumineuses dans les prairies temporaires étant donné l'apport de carbone organique sous forme de litière (aérienne et racinaire) caractérisée par une forte teneur en azote (AREF et WANDER, 1998).

La question d'une valeur seuil de la teneur en matière organique par rapport à la fertilité des sols est souvent posée (JOHNSTON, 1991 ; LOVELAND et WEBB, 2003). Néanmoins il apparaît encore difficile de fixer une valeur de référence sachant que cette valeur dépend d'une part de la texture des sols et d'autre part de la nature de la matière organique. En effet, c'est la fraction active de ce carbone qui est la plus susceptible d'expliquer la libération d'éléments nutritifs *via* une minéralisation rapide par les micro-organismes. Cette fraction active alimentée par les processus de rhizodéposition des plantes peut, de plus, stimuler le turnover des matières organiques stabilisées (*priming effect*) (CHENG et KUZVAKOV, 2005). Outre la teneur, la qualité de la matière organique est un paramètre majeur à prendre en compte notamment vis-à-vis des processus biologiques de décomposition / minéralisation. Dans ce contexte, différents auteurs ont mis en évidence des changements de proportion des différentes fractions de matière organique et des quantités de carbone organique soluble significativement plus faibles sous monoculture de maïs et rotation prairie temporaire - maïs comparativement à la prairie permanente (ACCOR et al., 2002 ; GREGORICH et al., 1994).

Impact de l'intégration de la prairie dans la rotation sur l'abondance, la diversité et l'activité biologique des sols

La succession d'espèces végétales différentes dans la rotation peut occasionner des modifications globales de

la diversité biologique des sols et des fonctions assurées par cette dernière notamment en relation avec les processus de décomposition et de minéralisation des matières organiques. La faune du sol, notamment la composante lombricienne, influence l'enfouissement, le brassage et le fractionnement de la matière organique dans le sol, favorisant de ce fait l'accessibilité des micro-organismes du sol à cette dernière. L'abondance et la diversité de cette composante sont fortement modifiées selon le mode d'occupation des sols et les pratiques culturales (PERES et al., 2010).

Au sein de la diversité biologique des sols, de nombreuses études ont montré que les propriétés microbiennes des sols (biomasse microbienne carbonée et azotée, activité enzymatique, respiration) sont plus sensibles aux changements de pratiques agricoles qu'aux variations de teneur en matière organique (POWLSON et al., 1987 ; BROOKES, 1995). La biomasse microbienne carbonée diminue selon le gradient écologique suivant : prairie permanente, prairie temporaire en rotation avec maïs, monoculture de maïs, et représente 3 % du carbone sous prairie temporaire en rotation avec maïs contre 2,5 % dans les deux autres conditions (ACCOR et al., 2002). La taille de la biomasse microbienne carbonée est deux fois plus importante en rotation prairie temporaire - culture (964 kg carbone/ha) qu'en rotation de culture annuelle (518 kg carbone/ha). Cette biomasse microbienne explique notamment une minéralisation brute de l'azote supérieure de 46 % en rotation prairie temporaire - culture (MURPHY et al., 2007). La biomasse microbienne sous prairie temporaire augmente d'autant plus que la diversité des espèces augmente dans la composition du mélange implanté (GUENAY et al., 2013). Cet effet positif de la diversité spécifique est certainement lié à une plus grande quantité de litière et une diversité de qualité de cette litière du fait de la diversité d'espèces prairiales présentes (DE DEYN et al., 2010).

Si l'abondance microbienne exprimée comme la biomasse microbienne carbonée des sols est significativement corrélée positivement avec la teneur en carbone organique des sols (WANG et al., 2013), et peut être modifiée selon le niveau de diversité floristique de la prairie (GUENAY et al., 2013), cela ne signifie pas pour autant que les caractéristiques fonctionnelles de cette biomasse sont modifiées. Les travaux de FONTAINE et BAROT (2005) et de EKSCHMITT et al. (2005) soulignent que les processus de décomposition et de minéralisation des matières organiques sont contrôlés par l'abondance mais aussi la diversité et l'activité métabolique des communautés microbiennes du sol. En effet, la composition des communautés microbiennes actives du sol influence le type et la nature des enzymes (en termes de spécificité de substrats) synthétisées, enzymes qui sont impliquées dans la dégradation des matières organiques (SINSABAUGH et al., 2008 ; GIANFREDA et RUGGIERO, 2006). Les prairies sont des écosystèmes où la diversité microbienne peut atteindre 10 000 espèces/g de sol (TORSVIK et al., 1996). La comparaison de la diversité microbienne entre prairie permanente et sol cultivé révèle notamment que l'écosystème prairial, du fait de sa stabilité,

sélectionne plutôt des bactéries à croissance lente (stratégie k) alors que les bactéries à stratégie rapide (stratégie r) sont favorisées en sol cultivé (GARBEVA *et al.*, 2006). Le développement des techniques de pyroséquençage (méthode d'analyse génétique) sur sol ces dernières années permet de classer les taxons microbiens en fonction de leur représentativité dans des sols prairiaux ou cultivés (ACOSTA-MARTINEZ *et al.*, 2010a; SHANGE *et al.*, 2012). Ainsi, il a été mis en évidence que l'introduction de la prairie dans la rotation peut augmenter le niveau de diversité génétique microbienne du sol et modifier la structure des communautés microbiennes et ce d'autant plus que la pérennité de la prairie est à l'origine de l'arrêt du travail du sol. Si de nombreux auteurs ont analysé l'effet de l'introduction de la prairie temporaire en rotation avec des céréales sur les teneurs en matière organique des sols, sur l'efficacité de l'utilisation des éléments minéraux et/ou les rendements des céréales, les conséquences sur le fonctionnement biologique des sols ne sont que peu abordées dans la littérature scientifique. La question est de savoir si les modifications d'abondance et de diversité sous prairie engendrent des différences de fonctionnalité des sols pouvant se répercuter sur les cultures suivantes au sein de la rotation. Sur un essai de 36 ans, VAN EEKEREN *et al.* (2008) mettent en évidence que la prairie temporaire en rotation présente des niveaux de fonctionnement du sol (par ex. minéralisation de l'azote, respiration) intermédiaires entre la prairie permanente et un sol cultivé. Pour aborder ces aspects de fonctionnalité, le suivi d'enzymes extracellulaires (enzymes excrétées de la cellule bactérienne) en lien avec les cycles biogéochimiques peut constituer un indicateur des processus de décomposition de la matière organique et de minéralisation de l'azote, du phosphore et du soufre dans les écosystèmes. Les activités enzymatiques en lien avec les cycles du C (betaglucosidase), N (uréease), P (phosphatase) et S (arylsulfatase) varient selon le mode d'occupation des sols et sont généralement plus élevées sous prairies que sous cultures (BANDICK et DICK, 1999; ACOSTA-MARTINEZ *et al.*, 2010b). Les activités phosphatase et aarylsulfatase diminuent ainsi respectivement de 49 % et 65 % en sol cultivé par rapport à un sol sous prairie (GUPTA et GERMDA, 1988). De plus, lorsque l'on considère une rotation, les activités sont plus élevées sous les rotations qui produisent le plus de matière organique comme les rotations incluant des surfaces de prairies (BANDICK et DICK, 1999; EKENLER et TABATABAI, 2002; KLOSE et TABATABAI, 2000; ACOSTA-MARTINEZ *et al.*, 2010b; MARCINKVICIENE *et al.*, 2013). FRIEDEL *et al.* (1996) affirment ainsi que la présence de résidus faciles à décomposer est à l'origine d'un pool de carbone labile qui rend mieux compte des activités enzymatiques que la teneur en matière organique du sol. Néanmoins, toutes les enzymes ne répondent pas de manière aussi sensible au changement de rotation dans toutes les situations (BENDING *et al.*, 2004) et le niveau de certaines activités est fortement lié à l'espèce végétale présente (CREGUT *et al.*, 2009) ou à la qualité biochimique des résidus du précédent cultural (ROMILLAC *et al.*, 2015).

Conclusion

Le maintien de la fertilité des sols est une préoccupation majeure des agronomes et des agriculteurs depuis de nombreuses années notamment parce que cette fertilité est intimement liée à la productivité des agroécosystèmes. Dans le contexte d'intensification écologique de l'agriculture, la prise en compte de la fertilité des sols se doit d'évoluer d'une notion de valeur (*i.e.* potentialité de production agricole) à une notion écologique pour laquelle le sol est un système capable de remplir différentes fonctions dont la fertilité. Parmi les pratiques agricoles, l'intégration des prairies temporaires et/ou artificielles dans la rotation permet d'améliorer le rendement des cultures annuelles suivantes de façon différentielle selon les exigences de ces dernières, de modifier la quantité et/ou qualité des matières organiques et d'influencer les propriétés biologiques des sols. Si le fonctionnement biologique est à la base de la fertilité des sols, il est actuellement difficile de disposer d'indicateurs biologiques pertinents (en lien avec l'abondance et/ou la diversité et/ou l'activité des organismes du sol) permettant de faire le lien entre les changements de pratiques agricoles et la fertilité. La difficulté réside notamment dans le fait que la fertilité est à aborder à la fois selon une dynamique temporelle (prise en compte i) à court terme de la disponibilité en éléments nutritifs pour le cycle de développement de la culture mais aussi ii) à moyen voire long terme des processus contribuant à l'évolution du pool d'éléments biodisponibles) et spatiale (prise en compte de la variabilité car le sol est un milieu hétérogène). Enfin, sachant que les sols sont à l'origine d'autres services, il est essentiel d'évaluer les compromis, synergies et antagonismes entre les différents types de services rendus par le sol (agronomiques, écologiques) en réponse à l'introduction des prairies dans les rotations.

Intervention présentée aux Journées de l'A.F.P.F.,
"La fertilité des sols sans les systèmes fourragers",
les 8 et 9 avril 2015

RÉFÉRENCES bibliographiques

- ABBOTT L.K., MURPHY D.V. (2003): "What is soil biological fertility?", *Soil biological Fertility - A key to sustainable land use in agriculture*, Abbott L.K., Murphy D.V. eds., Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 1-15.
- ACCOE F., BOECKX P., VAN CLEEMPUT O., HOFMAN G., HUI X., BIN H., GUANXIONG C. (2002): "Characterization of soil organic matter fractions from grassland and cultivated soils via C content and $\delta^{13}C$ signature", *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 16, 2157-2164.
- ACOSTA-MARTINEZ V., DOWD S.E., SUN Y., WESTER D., ALLEN V. (2010a): "Pyrosequencing analysis for characterization of soil bacterial populations as affected by an integrated livestock-cotton production system", *Applied Soil Ecology*, 45, 13-25.
- ACOSTA-MARTINEZ V., BELL C.W., MORRIS B.E.L., ZAK J., ALLEN V.G. (2010b): "Long-term soil microbial community and enzyme activity responses to an integrated cropping-livestock system in a semi-arid region", *Agriculture Ecosystems and Environment*, 137, 231-240.

S. Piutti et al.

- AgRESTE (2014) : *Enquête Pratiques culturales 2011, principaux résultats*, 21, rapport juillet 2014, 72 p.
- AREF S., WANDER M.M. (1998) : "Long-term trends of corn yield and soil organic matter in different crop sequences and soil fertility treatments on the morrow plots", *Advances in Agronomy*, 62, 153-197.
- AUGUSTO L., RANGER J., BINKLEY D., ROTH A. (2002) : "Impact of several common tree species of European temperate forests on soil fertility", *Ann. For. Sci.*, 59, 233-253.
- BALESDENT J. (1996) : "Un point sur l'évolution des réserves organiques des sols en France", *Etude et gestion des Sols*, 3, 4, 245-260.
- BALESDENT J., CHENU C., BALABANE M. (2000) : "Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage", *Soil and Tillage Research*, 53, 215-230.
- BANDICK A.K., DICK R.P. (1999) : "Field management effects on soil enzyme activities", *Soil biology and biochemistry*, 31, 1471-1479.
- BENDING G.D., TURNER M.K., RAYNS F., MARX M.C., WOOD M. (2004) : "Microbial and biochemical soil quality indicators and their potential for differentiating areas under contrasting agricultural management regimes", *Soil biology and biochemistry*, 36, 1785-1792.
- BLAIR N., CROCKER G.J. (2000) : "Crop rotation effects on soil carbon and physical fertility of two Australian soils", *Australian J. Soil Research*, 38, 71-84.
- BROOKES P.C. (1995) : "The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals", *Soil Fertil Soils*, 19, 269-279.
- CHENG W., KUZNETSOV Y. (2005) : "Root effects on soil organic matter decomposition", in Zobel R.W., Wright S.F. (eds.), *Roots and Soil Management: Interactions between Roots and the Soil*, Agronomy Monograph, 48, ASA-SSSA, Madison, Wisconsin.
- COOKE G.W. (1967) : *The Control of Soil Fertility*, Crosby-Lockwood, London, 526 p.
- CREGUT M., PIUTTI S., VONG P.C., SLEZACEK-DESCHAUMES S., CROVISIER I., BENIZRI E. (2009) : "Density, structure, and diversity of the cultivable arylsulfatase-producing bacterial community in the rhizosphere of field-grown rape and barley", *Soil biology and biochemistry*, 41, 704-710.
- DE DEYN G.B., QUIRK H., BARDGETT R.D. (2010) : "Plant species richness, identity and productivity differentially influence key groups of microbes in grassland soils of contrasting fertility", *biology Letters*, 7, 75-78.
- EKENLER M., TABATABAI M.A. (2002) : "B-galactosaminidase activity of soils: effect of cropping systems and its relationship to nitrogen mineralization", *Soil Fertil Soils*, 36, 307-376.
- EKSCHMITT K., LIU M., VETTER S., FOX D., WOLTERS V. (2005) : "Strategies used by soil biota to overcome soil organic matter stability - Why is dead organic matter left over in the soil?", *geoderma*, 128, 167-176.
- FARDEAU J.C. (2006) : "Des indicateurs de la fertilité des sols", *Communication*, 33 p.
- FARDEAU J.C., GUIRAUD G., THIERY J., MORAL C., BOUCHER B. (1988) : "Taux net de minéralisation de la matière organique des sols de grande culture de Beauce: conséquences pour l'azote", *CR Académie d'Agriculture de France*, 74, 109-115.
- FELLER C.L., THURIES L.J.M., MANLAY R.J., ROBIN P., FROSSARD E. (2003) : "The principles of rational agriculture", by Albrecht Daniel Thaer (1752-1828). An approach to the sustainability of cropping systems at the beginning of the 19th century", *J. Plant Nutrition and Soil Science - Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung und bodenkunde*, 166, 687-698.
- FONTAINE S., BAROT S. (2005) : "Size and functional diversity of microbe populations control plant persistence and long-term soil carbon accumulation", *Ecology Letters*, 8, 1075-1087.
- FONTAINE S.J., VANEK S., OYARZUN P., PARSIA S., RAO I., QUINTERO D.C., LAMALLE P. (2012) : "Pathways to agroecological intensification of soil fertility management by smallholder farmers in the Andean highlands", *Advances in Agronomy*, 116, 125-184.
- FRANZLUEBBERS A.J., SAWCHIK J., TABOADA M.A. (2014) : "Agronomic and environmental impacts of pasture-crop rotations in temperate North and South America", *Agric. Ecosyst. Environ.*, 190, 18-26.
- FRIEDEL J.K., MUNCH J.C., FISCHER W.R. (1996) : "Soil microbial properties and the assessment of available soil organic matter in a haplic luvisol after several years of different cultivation and crop rotation", *Soil Biol. Biochem.*, 28, 479-488.
- GARBEVA P., POSTMA J., VAN VEEN J.A., VAN ELsas D.J. (2006) : "Effect of above-ground plant species on soil microbial community structure and its impact on suppression of *Rhizoctonia solani* Ag 3", *Environmental Microbiology*, 8, 233-246.
- GIANFREDI L., RUGGIERO P. (2006) : "Enzyme Activities in Soil", P. Nannipieri, K. Smalla eds., *Nucleic Acids and Proteins in Soil*, vol. 8, Springer, Berlin, 257-311.
- REGORICH E.G., CARTER M.R., ANGERS D.A., MONREAL C.M., ELLERT B.H. (1994) : "Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils", *Can. J. Soil Sci.*, 74, 367-385.
- GRIFFITHS B.S., BALL B.C., DANIELL T.J., HALLETT P.D., NEILSON R., WHEATLEY R.E., OSLER G., BOHANEK M. (2010) : "Integrating soil quality changes to arable agricultural systems following organic matter addition, or adoption of a ley-arable rotation", *Applied Soil Ecology*, 46, 43-53.
- GUENAY Y., EBELING A., STEINAUER K., WEISSER W.W., EISENHAEUER N. (2013) : "Transgressive overyielding of soil microbial biomass in a grassland plant diversity gradient", *Soil biology and biochemistry*, 60, 122-124.
- GUPTA V.V.S.R., GERMIDA J.J. (1988) : "Distribution of microbial biomass and its activity in different soil aggregate size classes as affected by cultivation", *Soil biology and biochemistry*, 6, 777-786.
- HOWARD A. (1943) : *An Agricultural testament*, p 31 ; http://www.zetabalk3.com/docs/Agriculture/An_Agricultural_Testament_1943.pdf
- INGRAM J. (1990) : "The role of trees in maintaining and improving soil productivity - a review of the literature", R.T. Prinsley ed., *Agroforestry for sustainable production, economic implications*, 243-303, London, Commonwealth Science Council.
- IZAC A.M. (2003) : "Economic aspects of soil fertility. Management and agroforestry practices", Schroth G., Sinclair F.L. eds., *Trees, crops and soil fertility*, CAB International, Oxfordshire, 13-20.
- JANSSON S.L. (1967) : "Soil organic matter and fertility", *Soil Chemistry and Fertility*, C.V. Jacks ed., 1-10, Transactions of the International Society of Soil Science, Aberdeen, 1966.
- JOHNSTON A.E. (1991) : "Soil fertility and soil organic matter", *Advances in Soil Organic Matter Research: The Impact on Agriculture and the Environment*, ed. W.S. Wilson, 299-314, Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.
- JOHNSTON A.E., POULTON P.R., COLEMAN K. (2009) : "Soil organic matter : Its importance in sustainable agriculture and carbon dioxide fluxes", *Advances in agronomy*, 101, 1-57.
- KARLEN D.L., EASH N.S., UNGER P.W. (1992) : "Soil and crop management effects on soil quality indicators", *Amer. J. Alternative Agric.*, 7, 48-55.
- KARLEN D.L., MAUSBACH M.J., DORAN J.W., CLINE R.G., HARRIS R.F., SCHUMAN G.E. (1997) : "Soil quality: A concept, definition, and framework for evaluation", *Soil Science Society of America Journal*, 61, 4-10.

Prairies temporaires et fertilité des sols

- KLOSE S., TABATABAI M.A. (2000): "Urease activity of microbial biomass in soils as affected by cropping systems", *biol. Fertil. Soils*, 31, 191-199.
- LIU X., HERBERT S.J., HASHEMI A.M., ZHANG X., DING G. (2006): "Effects of agricultural management on soil organic matter and carbon transformation - a review", *Plant Soil Environ.*, 52, 531-543.
- LOVELAND P., WEBB J. (2003): "Is there a critical level of organic matter in the agricultural soils of temperate regions: a review", *Soil and Tillage Research*, 70, 1-18.
- MADER P., FLEISSBACH A., DUBOIS D., GUNST L., FRIED P., NIGGLI U. (2002): "Soil fertility and biodiversity in organic farming", *Science*, 296, 1694-1697.
- MANLEY 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, 217-233.
- MARCINKVICIENE A., BOGUZAS V., BALNYTE S., PUPALIENE R., VELUCKA R. (2013): "Influence of Crop Rotation, Intermediate Crops, and organic Fertilizers on the Soil Enzymatic Activity and Humus Content in organic Farming Systems", *Eurasian Soil Science*, 46, 198-203.
- MARSCHNER B., KALBITZ K. (2003): "Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils", *geoderma*, 113, 211-235.
- MOREL R. (1996): *Le sol : interface dans l'environnement, ressource pour le développement*, Masson (eds), 3^e cycle et recherche, Collection Sciences de l'environnement, 244 p.
- MURPHY D.V., STOCKDALE E.A., POULTON P.R., WILLISON T.W., GOULDING W.T. (2007): "Seasonal dynamics of carbon and nitrogen pools and fluxes under continuous arable and ley-arable rotations in a temperate environment", *European J. Soil Science*, 58, 1410-1424.
- PATZEL N., STICHER H., KARLEN D.L. (2000): "Soil fertility - Phenomenon and concept", *J. Plant Nutrition and Soil Science - Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung und bodenkunde*, 163, 129-142.
- PERES G., BELLIDO A., CURMI P., MARMONIER P., CLUZEAU D. (2010): "Relationships between earthworm communities and burrow numbers under different land use systems", *Pedobiologia*, 54, 37-44.
- POWELSON D.S., BROOKES P.C., CHRISTENSEN B.T. (1987): "Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in the total soil organic matter due to straw incorporation", *Soil Biol. Biochem.*, 19, 159-164.
- ROMILLAC N., PIUTTI S., AMIAUD B., SLEZACK-DESCHAUMES S. (2015): "Influence of pea root traits modulating soil bioavailable C and N effects upon ammonification activity", *Soil biology and biochemistry*, sous presse.
- RUSSEL E.W. (1977): "The role of organic matter in soil fertility", *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*, 281, 209-219.
- SCHIMEL J.P., WEINTRAUB M.N. (2003): "The implications of exoenzyme activity on microbial carbon and nitrogen limitation in soil: a theoretical model", *Soil biology and biochemistry*, 35, 549-563.
- SEBILLOTTE M. (1989): *Fertilité et système de production*, Inra éds., Collection Ecologie et aménagement rural, 369 p.
- SHANG R.S., ANKUMAH R.O., IBEKWE A.M., ZABAWA R., DOWD S.E. (2012): "Distinct Soil Bacterial Communities Revealed under a Diverse Managed Agroecosystem", *PLOS One*, 7, 1-10.
- SINSABAUGH R.L., LAUBER C.L., WEINTRAUB M.N., AHMED B., ALLISON S.D., CRENSHAW C., CONTOSTA A.R., CUSACK D., FREY S., GALLO M.E., GARTNER T.B., HOBBS S.E., HOLLAND K., KEELER B.L., POWERS J.S., STURSOVA M., TAKACS-VESEBACH C., WALDROP M.P., WALLENSTEIN M.D., ZAK D.R., ZEGLIN L.H. (2008): "Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale", *Ecology Letters*, 11, 1252-1264.
- STOCKDALE E.A., SHEPHERD M.A., FORTUNE S., CUTTLE S.P. (2002): "Soil fertility in organic farming systems ?Fundamentally different?", *Soil Use and Management*, 18, 301-308.
- TILMAN D., CASSMAN K.G., MATSON P.A., NAYLOR R., POLASKY S. (2002): "Agricultural sustainability and intensive production practices", *Nature*, 418, 671-677.
- TORSVIK V., SERHEIM R., GOKSEYER J. (1996): "Total bacterial diversity in soil and sediment communities-a review", *J. Industrial Microbiology and biotechnology*, 17, 170-178.
- TRICHET P., JOUVET C.L., ARROUAYS D., LOUSTAU D., BERT D., RANGER J. (1999): "Le maintien de la fertilité des sols forestiers landais dans le cadre de la sylviculture intensive du pin maritime", *Etude et gestion des sols*, 6, 197-214.
- VAN EEKERE N., BOMMELE L., BLOEM J., SCHOUTEN T., RUTGERS M., DE GODE R., REHEUL D., BRUSSAARD L. (2008): "Soil biological quality after 36 days of ley-arable cropping, permanent grassland and permanent arable cropping", *Applied Soil Ecology*, 40, 432-446.
- VERTES F., MENASSERI S., MORVAN T. (2005): "Long term effect of the length of the grass period in ley-arable rotations on the quality of soil organic matter", *14th N workshop*, 116, 219-222, PRI Maastricht, NL.
- VON LUTZOW M., KOEGL-KNABNER I., EKSCHMITT K., FLESSA H., GUGGENBERGER G., MATZNER E., MARSCHNER B. (2007): "Soil fractionation methods: Relevance to functional pools and to stabilization mechanisms", *Soil biology and biochemistry*, 39, 2183-2207.
- WAKSMAN S.A. (1942): "The microbiologist and soil organic matter", *Soil Science Society of America Proceedings*, 7, 16-21.
- WANG Q., XIAO F., HE T., WANG S. (2013): "Responses of labile soil organic carbon and enzyme activity in mineral soils to forest conversion in the subtropics", *Annals of Forest Science*.
- WEST T.O., POST W.M. (2002): "Soil organic carbon sequestration rates by tillage and crop rotation: a global data analysis", *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 66, 1930-1946.
- YANG X.M., KAY B.D. (2001): "Rotation and tillage effects on soil organic carbon sequestration in a typical Hapludalf in Southern Ontario", *Soil Tillage Res.*, 59, 107-114.

Annexe 2

Itinéraires techniques de l'expérimentation au champ

A- Résumé des quantités d'intrants par culture et par an

Culture	Année	kg Norg / ha	kg Nmin / ha	kg S / ha	IFT ¹ Herbicides	IFT ¹ Hors herbicides	IFT Herbicides de référence ²	IFT Hors herbicides de référence	IFT Herbicide / IFT référence ²	IFT Hors herbicide / IFT référence ²
Blé	2008-2009	0	160	0	0,58	1,36			32%	48%
	2009-2010	163	160	0	1,15	1,65			63%	58%
	2010-2011	0	183	0	0,96	0,00	1,83	2,83	53%	0%
	2011-2012	0	66	0	0,75	0,74			41%	26%
	2012-2013	0	168	0	0,75	0,74			41%	26%
Orge	2008-2009	0	232	0	0,00	0,00			0%	0%
	2009-2010	163	160	0	0,75	0,57			44%	27%
	2010-2011	0	183	0	0,99	0,00	1,71	2,09	58%	0%
	2011-2012	0	151	0	0,00	1,15			0%	55%
	2012-2013	0	168	0	0,00	0,69			0%	33%
Pois	2008-2009	0	0	0	1,29	0,00			94%	0%
	2009-2010	163	0	0	1,31	0,00			96%	0%
	2010-2011	0	0	0	1,35	0,00	1,37	3,88	99%	0%
	2011-2012	0	0	0	1,00	0,00			73%	0%
	2012-2013	0	0	0	1,04	0,00			76%	0%
Colza	2008-2009	0	160	0	0,00	1,00			0%	20%
	2009-2010	163	171	141	1,01	0,00			45%	0%
	2010-2011	0	114	48	1,56	0,00	2,23	4,93	70%	0%
	2011-2012	0	97,5	0	1,00	2,66			45%	54%
	2012-2013	0	151	109	1,54	2,48			69%	50%

1 Indice de Fréquence de Traitement (IFT) phytosanitaire : pour chaque produit, l'IFT est calculé comme la dose de substance active appliquée / dose de substance active homologuée X surface traitée / surface totale de la parcelle. Les IFT de chaque produit appliqué sur la parcelle sont ensuite additionnés, séparément pour les herbicides et pour les autres phytosanitaires

2 IFT de référence de la région Lorraine sauf pour le pois où il n'existe pas de référence régionale (la référence nationale est alors utilisée)

B- itinéraire technique du colza

Saison de culture	Opération	Date	Intrant	Dose/ha
2008-2009	Labour	25/08/2008		
	Travail superficiel	28/08/2008		
		26/09/2008		
	Semis	26/09/2008		
	Fertilisation	29/04/2009	Ammonitrate	476 kg
	Traitement phytosanitaire	09/04/2009	Mavrik	0,2 l
	Récolte	20/07/2009		36,1 qx/ha
2009-2010	Fertilisation	18/08/2009	Fumier	41,7 T
	Labour	19/08/2009		
	Travail superficiel	20/08/2009		
		25/08/2009		
	Semis	27/08/2009	Grizzly	
	Traitement phytosanitaire	27/08/2009	Colzor Trio	4,03 l
	Fertilisation	19/03/2010	Solution azotée Sulfonitrate	170 l 403 kg
	Récolte	04/08/2010		31,9 qx/ha
2010-2011	Labour	23/08/2010		
	Travail superficiel	25/08/2010		
		26/08/2010		
		01/09/2010		
	Semis	03/09/2010	Exocet	2,74 kg
	Traitement phytosanitaire	03/09/2010	Colzor Trio	4 l
			Novall	1,39 l
	Fertilisation	15/03/2011	27/18	352 kg
		15/03/2011	Solution azotée Sulfonitrate	200 l 138 kg
2011-2012	Récolte	15/04/2011		
	Labour	08/08/2011		
	Travail superficiel	10/08/2011		
		22/08/2010		
	Semis	22/08/2011	Sesame	2,8 kg
	Traitement phytosanitaire	02/09/2010	Novall	2,5 l
	Fertilisation	14/03/2012	Solution azotée	250 l
	Traitement phytosanitaire	13/03/2012	Pearl protech	0,33 l
		06/04/2012	Mavrik flo	0,20 l
		04/05/2012	Pictor Pro	0,50 kg
2012-2013	Récolte	23/07/2012		4,5qx/ha
	Labour	14/08/2012		
	Travail superficiel	15/08/2012		
		27/08/2012		
	Semis	28/08/2012	Adriana	2,88 kg
	Traitement phytosanitaire	05/09/2012	Novall	2,19 l
		17/10/2012	Pilot	0,8 l
		17/10/2012	Pearl protech	0,33 l
			Solution azotée Sulfonitrate	180 l 312 kg
	Fertilisation	06/03/2013		
	Traitement phytosanitaire	22/04/2013	Steward	0,07 kg
		27/05/2013	Pictor Pro	0,50 kg
	Récolte			

C- itinéraire technique du blé

Saison de culture	Opération	Date	Intrant	Dose/ha
2008-2009	Labour	25/08/2008		
	Travail superficiel	28/08/2008		
		26/09/2008		
	Semis	15/10/2008	Azuro	175 kg
	Fertilisation	09/04/2009	Ammonitrate	476 kg
	Traitement phytosanitaire	07/05/2009	Bofix	2,31 l
		20/05/2009	Bravo	0,93 l
			Menara	0,37 l
	Récolte	29/07/2009		58,1 qx/ha
2009-2010	Fertilisation	18/08/2009	Fumier	41,7 T
	Labour	19/08/2009		
	Travail superficiel	29/08/2009		
	Semis	07/10/2009	Sankara	166 kg
	Traitement phytosanitaire	07/10/2009	Metarex	1,55 kg
		19/03/2010	Solution azotée	170 l
	Fertilisation	29/04/2010	Solution azotée	240 l
	Traitement phytosanitaire		Bofix	3 l
		16/04/2010	Atlantis	0,2 kg
			Attribut	na
			Bravo	1,02 l
		18/05/2010	Menara	0,41 l
			Acanto	0,08 l
			Amistar	0,07 l
	Récolte	04/08/2010		85,2 qx/ha
2010-2011	Labour	23/08/2010		
	Travail superficiel	25/08/2010		
	Semis	23/09/2010	Bermude	160 kg
	Traitement phytosanitaire	23/09/2010	Quetzal	2,31 l
		15/03/2011	27/18	352 kg
	Fertilisation	15/03/2011	Solution azotée	200 l
		15/04/2011	Solution azotée	270 l
	Récolte	01/08/2011		55 qx/ha
2011-2012	Labour	08/08/2011		
	Travail superficiel	10/08/2011		
		14/08/2011		
		23/08/2010		
	Semis*	30/09/2011	Bermude	175 kg
		15/03/2012	Tercie	171 kg
	Fertilisation	12/04/2012	Solution azotée	170 l
	Traitement phytosanitaire	04/05/2012	Bofix	3 l
			Bell	0,81 l
		18/06/2012	Acanto	0,2 l
	Récolte			na
2012-2013	Labour	14/08/2012		
	Travail superficiel	15/08/2012		
	Semis	08/10/2012	Brentano	166 kg
	Fertilisation	06/03/2013	Solution azotée	180 l
		10/05/2013	Solution azotée	250 l
	Traitement phytosanitaire	22/04/2013	Bofix	3 l
		06/05/2013	Cherokee	1,47 l
	Récolte			na

*En 2011-2012 le blé d'hiver a gelé et les parcelles ont été ressemées en blé de printemps

D- itinéraire technique de l'orge

Saison de culture	Opération	Date	Intrant	Dose/ha
2008-2009	Labour	25/08/2008		
	Travail superficiel	28/08/2008		
		26/09/2008		
	Semis	15/10/2008	Colibri	138 kg
	Fertilisation	09/04/2009	Ammonitrate	476 kg
		05/06/2009	Urée	157 kg
	Récolte	11/07/2009		65,6 qx/ha
2009-2010	Fertilisation	18/08/2009	Fumier	41,7 T
	Labour	19/08/2009		
	Travail superficiel	29/08/2009		
	Semis	02/10/2009	Marado	154 kg
	Traitement phytosanitaire	02/10/2009	Metarex	1,56 kg
	Fertilisation	19/03/2010	Solution azotée	170 l
		29/04/2010	Solution azotée	240 l
	Traitement phytosanitaire	16/04/2010	Bofix	3 l
		18/05/2010	Fandango	0,99 l
	Récolte	12/07/2010		84,7 qx/ha
2010-2011	Labour	23/08/2010		
	Travail superficiel	25/08/2010		
	Semis	23/09/2010	Marado	148 kg
	Traitement phytosanitaire	23/09/2010	Carmina	4,44 l
		15/03/2011	27/18	352 kg
	Fertilisation	15/03/2011	Solution azotée	200 l
		18/04/2011	Solution azotée	270 l
	Récolte	01/08/2011		71,4 qx/ha
2011-2012	Labour	08/08/2011		
	Travail superficiel	10/08/2011		
		14/08/2011		
		23/08/2010		
	Semis	30/09/2011	Campagne	165 kg
	Fertilisation	13/03/2012	Solution azotée	178 l
		14/04/2012	Solution azotée	210 l
	Traitement phytosanitaire	10/05/2012	Fandango	0,95 l
	Récolte	11/07/2012	Pyros	0,61 l
2012-2013				na
	Labour	14/08/2012		
	Travail superficiel	15/08/2012		
	Semis	19/10/2012	Pelican	136 kg
	Fertilisation	06/03/2013	Solution azotée	180 l
		10/05/2013	Solution azotée	250 l
	Traitement phytosanitaire	27/05/2013	Fandango	1,21 l
	Récolte			na

E- Itinéraire technique du pois

Saison de culture	Opération	Date	Intrant	Dose/ha
2008-2009	Labour	25/08/2008		
	Travail superficiel	28/08/2008		
		26/09/2008		
	Semis	19/03/2009	Lumina	278 kg
	Traitement phytosanitaire	07/05/2009	Adagio Baroud	0,8 kg 1 l
	Récolte	29/07/2009		38 qx/ha
2009-2010	Epandage	18/08/2009	Fumier	41,7 T
	Labour	19/08/2009		
	Semis	22/03/2010	Lumina	259 kg
	Traitement phytosanitaire	21/05/2010	Adagio Baroud	0,83 kg 1 l
	Récolte	04/08/2010		28,6 qx/ha
	Labour	23/08/2010		
2010-2011	Travail superficiel	25/08/2010		
	Semis	05/04/2011	Kayanne	244 kg
	Fertilisation	15/03/2011	27/18	352 kg
	Traitement phytosanitaire	20/05/2011	Adagio	1,11 kg
	Récolte	15/03/2011	Baroud	0,78 l
	Labour	08/08/2011		
2011-2012	Travail superficiel	10/08/2011		
		12/03/2012		
	Semis	13/03/2012	Kayanne	273 kg
	Traitement phytosanitaire	04/05/2012	Adagio	1,4 kg
	Récolte	30/07/2012		
	Labour	14/08/2012		
2012-2013	Travail superficiel	15/08/2012		
	Semis	27/03/2013	Kayanne	275 kg
	Traitement phytosanitaire	27/05/2013	Adagio	1,46 kg
	Récolte			

F- Substance active et organismes cibles de produits phytosanitaires utilisés

Nom	Substance active	Concentration substance active (g/l)	Organismes cibles	Dose homologuée (l/ha ou kg/ha)
Colzor Trio	Clomazone	30	Dicotylédones et graminées	4
	Diméthachlore	188		
	Napropamide	188		
Novall	Métazachlore	400	Dicotylédones et graminées	2,5
	Quinmérac	100		
Carmina	diflufénicanil	25	Dicotylédones et graminées	4,5
	chortoluron	400		
Quetzal	Diflufénicanil	42	Dicotylédones et graminées	2,4
	Isoproturon	501		
Adagio	Bentazone	870	Dicotylédones	1,4
Baroud	Pendiméthaline	400	Dicotylédones et graminées	1,4
Mavrik	Tau-fluvalinate	240	Insectes	0,2
Bofix	2,4-MCPA	200	Dicotylédones	4
	Clopyralid	20		
	Fluroxypyr	40		
Bravo	Chlorothalonil	498	Champignons	1,5
Menara	Propiconazole	250	Champignons	0,5
	Cyproconazole	160		
Pearl protech	Deltaméthrine	15	Insectes	0,5
Pictorpro	Boscalid	500	Champignons	0,5
Fandango	Prochloraze	290	Champignons	1,75
Pyros	Prochloraze	452	Champignons	1
Bell	Boscalid	232	Champignons	1,5
	Epoxiconazole	67		
Acanto	Picoxystrobine	252	Champignons	1
Metarex	Métaldéhyde	0,5	Limaces	na
Amistar	Azoxystrobine	248	Champignons	1
Atlantis	Mesosulfuron- methyl	30	Dicotylédones et graminées	0,5
	Iodosulfuron méthyl sodium	6		
Attribut	Propoxycarbazone sodium	700	Graminées	0,06
Cherokee	Chlorothalonil	375	Champignons	2
	Cyproconazole	50		
	Propiconazole	62,5		
Pilot	Quizalofop-P-éthyle	50	Graminées	1,2
Steward	Indoxacarbe	300	Insectes	0,085

G- Composition des produits fertilisants

Nom	N (%)	S (%)	P (%)	K (%)
Urée	46	0	0	0
Solution azotée	39	0	0	0
27/18	0	0	27	18
Sulfonitrate	26	35	0	0
Fumier	0,39	0	0,37	0,40
Ammonitrate	33,5	0	0	0

Effets de l'introduction du pois dans une succession de cultures sur certaines communautés végétales et bactériennes et leurs fonctions écosystémiques associées

Résumé :

Les plantes cultivées peuvent modifier la disponibilité en ressources et les perturbations perçues par les communautés d'organismes présentes dans les agroécosystèmes et en conséquence, influencer les fonctions écosystémiques utiles à la production agricole telles que la minéralisation de N et de S ou la compétition culture-adventices.

Notre objectif était d'évaluer l'effet du pois (*Pisum sativum* L.), introduit dans une succession de cultures, sur les communautés d'adventices et les communautés microbiennes impliquées dans la minéralisation de N et S. Pour ce faire, nous avons mené des expérimentations en conditions contrôlées et utilisé les données d'une expérimentation au champ conduite pendant 5 ans.

En conditions contrôlées, nous avons montré que le pois influence via ses traits racinaires certaines activités enzymatiques liées à la minéralisation de N. En revanche au champ, les variables climatiques influencent principalement le fonctionnement des communautés microbiennes impliquées dans la minéralisation de N et S. Par ailleurs, nous avons observé que le pois sélectionnait des communautés d'adventices fonctionnellement différentes de celles d'autres cultures, comme le colza, mais cet effet du pois ne persistait pas sous la culture suivante.

En conclusion, les effets du pois sur les communautés microbiennes impliquées dans la minéralisation de N et S sont faibles comparés à ceux d'autres facteurs comme les conditions climatiques. En revanche l'effet du pois sur les communautés d'adventices est fort mais limité dans le temps. Ces résultats montrent la nécessité de mener les expérimentations au champ sur plusieurs années afin de prendre en compte la variabilité climatique.

Mots clés : arylsulfatase, protéase, *Pisum sativum*, adventices, traits fonctionnels racinaires

Impacts of pea introduction in a crop succession on specific plant and bacterial communities and their ecosystem functions

Abstract:

Crops species modify resources availability and perturbation regimes perceived by the communities of organisms residing in the agroecosystems and, as a consequence, can lead to alteration of ecosystem functions useful to crop production, such as nitrogen and sulfur mineralization or crop-weeds competition, realized by weeds or microorganisms.

Our objective was to study the effect of a legume, pea, when introduced in a crop succession, on weed communities and microbial communities involved in protein decomposition and sulfate ester mineralization, which are the main forms of N and S, respectively, in agricultural soils. To do so, we performed experiments in controlled conditions used data from a 5-years field experiment.

In controlled conditions, we showed that pea during its development modify through its root functional traits several enzymatic activities involved in N decomposition/mineralization. However, in the field experiment, climatic factors were the main drivers of the microbial communities involved in N and S decomposition/mineralization. Moreover, pea selected weed communities that were functionally different from weed communities growing in other crops such as oilseed rape. However, this effect did not persist under the following crop.

As a conclusion, our results suggest that pea modifications of microbial communities are weak compared to other factors such as climatic factors. However, pea effects on weed communities are strong but short lived. Those results highlight the complementarity of microcosm and field experiments, and the necessity of long term field experiments to take into account climate variability.

Key words: arylsulfatase, protease, *Pisum sativum*, weeds, root functional traits