

# VetAgro Sup

Mémoire de fin d'études d'ingénieur

Vers une approche énergétique de  
la qualité écologique des sols :  
développement d'une enquête de la  
qualité organique des sols.

Louis Dufour

Option : ALIME

Années scolaires : 2015-2016



# Mémoire de Stage de fin d'étude



Vers une approche énergétique de la  
qualité écologique des sols :  
développement d'une enquête de la  
qualité organique des sols



*« L'étudiant conserve la qualité d'auteur ou d'inventeur au regard des dispositions du code de la propriété intellectuelle pour le contenu de son mémoire et assume l'intégralité de sa responsabilité civile, administrative et/ou pénale en cas de plagiat ou de toute autre faute administrative, civile ou pénale. Il ne saurait, en cas, seul ou avec des tiers, appeler en garantie VetAgro Sup. »*



# Remerciements

Je souhaiterais remercier l'ensemble des personnes qui ont contribué à l'aboutissement et au bon déroulement de mon travail de stage. Merci, pour toutes les nouvelles expériences et connaissances que j'ai acquises lors de ces derniers mois. Je repartirai avec d'agréables et riches souvenirs.

Tout d'abord, merci à Naoise Nunan (maître de stage), Ludovic Foti et Luc Abbadie (co-encadrants de stage) pour m'avoir accompagné le long de ce travail de stage et suivi de manière assidue pendant ces mois.

Je voudrais remercier tout particulièrement Anke Herrmann (encadrante de stage en Suède), Tobias, Johannes, Clementine et Jan pour notre travail d'équipe international dans la bonne humeur à SLU.

Je remercie également les membres des équipes IESS, Ecosys, Génie et microbiologie des procédés alimentaires et qui m'ont aidé dans mon travail expérimental en laboratoire. En particulier, merci à Daniel, Valérie, Marjolaine, Kevin, Julie, Brigitte et Pascale pour leur sympathie.

Je tiens à remercier également Alain pour son aide de Philadelphie.

Merci à Nathalie Vassale d'avoir accepté être ma tutrice de stage et d'avoir suivi mon travail.

Remerciements aux amis et à la famille qui m'ont soutenu au cours de cette période, en particulier au jardinier marcheur, à sa conjointe la fée du logis et à mon tendre compagnon.

J'aimerais dédier ce rapport à une cousine ayant rencontré des difficultés. Elle a toutefois réussi en persévérant au quotidien tout en pouvant encore rêver aux lendemains qui chantent.



# Table des matières

<b>Remerciements</b> .....	<b>p.1</b>
Liste des figures.....	<b>p.3</b>
Liste des tableaux.....	<b>p.3</b>
Liste des annexes.....	<b>p.3</b>
Liste des abréviations.....	<b>p.4</b>
<b>Résumé</b> .....	<b>p.5</b>
<b>1. Introduction</b> .....	<b>p.6</b>
<b>2. Synthèse de la littérature scientifique</b> .....	<b>p.7</b>
2.1. <i>L'approche énergétique</i> .....	<b>p.9</b>
2.2. <i>Élucider la composition moléculaire des matières organiques</i> .....	<b>p.11</b>
2.3. <i>Caractériser thermiquement des matières organiques</i> .....	<b>p.12</b>
<b>3. Matériels et méthodes</b> .....	<b>p.14</b>
4.1. <i>Démarche générale de notre étude</i> .....	<b>p.14</b>
4.1. <i>Echantillonnage des sols</i> .....	<b>p.14</b>
4.2. <i>Extraction des matières organiques des sols</i> .....	<b>p.15</b>
4.3. <i>Spectrométrie de masse</i> .....	<b>p.16</b>
4.4 <i>Microcalorimétrie</i> .....	<b>p.17</b>
4.5 <i>Extraction et purification de l'ADN des sols</i> .....	<b>p.18</b>
4.6. <i>Analyse thermique</i> .....	<b>p.19</b>
4.6. <i>Statistiques</i> .....	<b>p.19</b>
<b>4. Résultats</b> .....	<b>p.20</b>
<b>5. Discussion</b> .....	<b>p.23</b>
<b>6. Conclusion</b> .....	<b>p.26</b>
<b>7. Bibliographie</b> .....	<b>p.27</b>
<b>8. Annexes</b> .....	<b>p.31</b>



## Liste des figures

Figure 1 : Evolution des émissions de la chaleur issue du métabolisme des communautés microbiennes de 6 sols en fonction du temps écoulé après l'ajout de 7 intrants. p.20

Figure 2 : Graphique des émissions totales de chaleur métabolique en fonction des types d'intrants organiques utilisés pour amender les sols. p.20

Figure 3 : Évolution de la proportion d'énergie potentiellement disponible pour les communautés microbiennes dissipée sous forme de chaleur issue de leur métabolisme au sein de 6 sols en fonction du temps écoulé après l'ajout de 6 intrants. p.21

Figure 4: Graphique de la proportion d'énergie apportée et potentiellement disponible pour les communautés microbiennes dissipée sous forme de chaleur métabolique en fonction des différents types d'intrants organiques utilisés pour amender les sols après leur ajout de 1h à 24 h. p.21

Figure 5: Graphique des émissions totales de CO<sub>2</sub> en fonction des différents types d'intrants organiques utilisés pour amender les sols après leur ajout de 1 h à 24 h. p.22

Figure 6: Graphiques de la corrélation entre l'énergie calorifique apportée au sol sous forme de MO et la chaleur métabolique. p.22

Figure 7: Graphiques des 2 corrélations entre la masse apportée d'azote sous forme de MO (1<sup>ère</sup> courbe), la proportion d'énergie ajoutée dissipée sous forme de chaleur (2<sup>ème</sup> courbe) avec la dimension 3 de l'ACP réalisée à partir des données de spectrométrie de masse.. p.23

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Rendements d'extraction et paramètres chimiques pour différents types de matières organiques extraites à l'eau (WEOM). p.14

Tableau 2 : Principaux paramètres caractérisant les sols. p.17

Tableau 3 : Principaux indices métaboliques et thermiques caractérisant les MO. p.18

## Liste des annexes

Annexe 1: Graphiques des individus montrant les plans de dimensions 1-2, 1-3, 1-4 et 1-5 de l'ACP réalisée à partir des données issues de l'analyse de séquençage des ADN extraits des différents sols. p.31

Annexe 2: Graphiques du spectre de masses de chaque WEOM issu de l'analyse de spectrométrie de masse par infusion en électrospray négatif. . p.32

Annexe 3: Graphiques des individus projetés sur les plans de dimensions 1-2 et 1-3 de l'ACP réalisée à partir des données issues de l'analyse par spectrométrie de masse. p.33



## Liste des abréviations

ACP : analyse en correspondance principale

WEOM : water extractable organic matter (en anglais), matière organique extraite à l'eau (en français)

MO : matière organique

MOS : matières organiques des sols

CO<sub>2</sub>-C : carbone composant la molécule de dioxyde de carbone

NOSC : nominal oxydation state of carbon (en anglais), état d'oxydation nominal du carbone (en français)

$\Delta G^{\circ}C_{ox}$  : changement d'énergie libre de Gibbs standard de la demi-équation d'oxydation d'un composé organique

$\Delta G^{\circ}C_{red}$  : changement d'énergie libre de Gibbs standard de la demi-réaction de réduction d'un oxydant comme le dioxygène en eau par exemple.

CO<sub>2</sub>-T50 : température où 50 % du CO<sub>2</sub> total a été émis lors de l'oxydation thermique d'une matière organique

Q : chaleur

R50 : indice de récalcitrance de la matière organique, calculé à partir de la T50 (Harvey et al. 2012)

T50 : la température à partir de laquelle 50% de la masse totale de l'échantillon a diminué lors de son oxydation thermique

DSC : differential scanning calorimetry (en anglais), instrument de mesure en analyse thermique

Lat : latitude

Long : longitude

TOC : total organic carbon (en anglais), carbone organique total (en français)

HRMS : spectromètre de masse haute résolution

ESI-MS : electrospray ionization-mass spectrometry (en anglais), ionization en electrospray negative – spectromètre de masse.

$\Delta H$  WEOM : enthalpie de combustion de la matière organique extraite à l'eau ajoutée au sol lors de l'expérience microcalorimétrique.

ANOVA : analyse de variance

Q-T50 : indice du temps où 50 % des émissions de chaleur métabolique ont été réalisées.

OTU : unité taxonomique opérationnelle



## Résumé

### Abstract

There has been growing interest in assessing the quality of soils due to increased environmental pressure and increased societal demands. The flow of energy is a fundamental property of ecosystems. This work aimed to better understand how energy flows in soil were related to different organic matters and different microbial communities with a view to developing an index of soil quality based on energetics.

Heat flows after addition of water extractable organic matter (WEOM) was measured by microcalorimetry.

The molecular composition of the WEOM was analysed by high resolution mass spectrometry and the composition of the microbial communities by DNA sequencing. The relationships between these measures and the dynamics of energy dissipation were then determined. In addition the usefulness of simple thermal indices to predict energy flows was assessed.

Differences of the total metabolic heat flows after the addition of different WEOM were related to the energy density of the OM.

Differences of dynamics of energy dissipation between soils were related to the structure of the microbial communities in some cases (after the addition of urban meadow and periurban forest WEOM), but were not related to the molecular composition of WEOM.

The data suggest that different soil microbial communities do not have the same thermodynamic response to a change in available OM, confirming the results of Bölscher et al. (2016)

---

**Key words : soil, quality, water extractable organic matter, energetics, microcalorimetry, mass spectrometry, thermal analysis.**



# 1. Introduction

Bien que l'origine du changement climatique contemporain soit un sujet ne faisant pas encore consensus dans la communauté scientifique, il semblerait ne plus faire de doute que les chercheurs à travers le monde mesurent les effets de ce dernier. Les conséquences contrastées selon la géographie pourraient être caricaturées soit par des épisodes d'inondations ou de sécheresses d'intensité et de fréquence en hausses. Les conséquences aux coûts énormes sur le long terme pourraient conduire par exemple à une augmentation du phénomène migratoire et de violents conflits pour des raisons climatiques (Reuveny R., 2007). D'une autre nature, mais tout aussi importants à prendre en compte, de rapides changements de températures, de régimes concernant les précipitations et d'occupations végétales risquent d'affecter les sols (La Rowe et Van Cappellen, 2011). Ohno et al. (2014) nous rappellent que le changement climatique a de fortes chances d'affecter les processus du sol en modifiant la quantité et la composition chimique des matières organiques des sols et augmentant la minéralisation microbienne du carbone du sol, et les flux hydriques s'écoulant à travers le sol

L'évolution des sociétés au cours de l'Histoire, par le développement technologique, leur a permis un accès aux ressources naturelles et à leur valorisation. Le contexte de l'après seconde guerre mondiale, a été propice au développement agricole dans certains pays. Cela a pu conduire à de rapides changements de pratiques et d'usages concernant les sols sans peut-être que les décisions à l'origine aient été prises avec la connaissance des conséquences sur la productivité et la qualité environnementale sur le long terme (Karlen et al., 1997). La contrainte démographique contemporaine peut se manifester par exemple sous la forme d'une urbanisation des territoires et une demande en biens de consommation en hausse. Ainsi cette tendance d'une raréfaction des ressources, peut s'appliquer aux stocks de sol et de ses constituants. Artificialisation des sols, désertification, salinisation, tassement, érosion des sols, présence de pesticides, concentrations croissantes en N et P dans les ressources en eau, capacité insuffisante de rétention en eau des sols, sédimentation des cours d'eau, diminution du nombre d'habitats pour la faune sont des enjeux qui ont pu être négligés dans le passé par un manque de compréhension de la part des décideurs concernant les écosystèmes et leurs fonctions (Cline et Ruark, 1995). De manière illustrative, la diminution des stocks de carbone des sols dans le Nord-Est chinois ces dernières décennies du fait de certaines pratiques agricoles a pu conduire à certaines externalités négatives comme des phénomènes d'érosion hydrique et de pollution des eaux. (Li et al., 2013)

C'est donc dans ce double contexte de changement climatique, d'usages des sols et de raréfaction de cette ressource que le concept de qualité des sols pourrait être appréhendé comme un moyen permettant de répondre de manière pertinente aux besoins et préoccupations d'aujourd'hui et de demain concernant la ressource sol (Karlen et al., 1997). La qualité des sols peut être définie comme « la capacité d'un type particulier de sol à fonctionner, au sein d'un écosystème naturel ou anthropisé, tout en assurant la santé végétale et animale, et un certain niveau de productivité, le maintien ou l'amélioration de la qualité de l'air et de l'eau, et le soutien de la santé humaine et des habitations » (Karlen et al., 1997). L'évaluation de cette qualité des sols est une manière de rendre compte des impacts des décisions humaines dans leur gestion de la ressource sol.



Winding et al. (2005) montrent l'importance de la prise de conscience de la situation actuelle concernant le risque de détérioration de la qualité du sol en rapportant que l'Agence Européenne de l'Environnement avait proposé un cadre pour l'évaluation de la qualité des sols. Pour ces mêmes auteurs, évaluer la qualité des sols semble être un objectif qui a pour but d'identifier des indicateurs pertinents pour suivre l'évolution de paramètres rendant compte de la qualité d'un sol.

Deux visions de l'évaluation de la qualité des sols sont présentées par (Karlen et al., 1997). La première consiste à dire que la qualité d'un sol est une caractéristique de ce dernier, qu'elle est contrainte par des processus de pédogenèse et par conséquent que chaque sol a une habilité naturel à fonctionner. Cette qualité peut donc être caractérisée par différents paramètres reflétant le potentiel d'un sol à assurer une fonction spécifique. La seconde manière pour aborder l'évaluation de la qualité des sols semble de considérer qu'un sol assurant la réalisation d'une fonction à son potentiel maximal comme lors de l'adoption des meilleures pratiques de gestion est un sol d'excellente qualité. En revanche, si un sol fonctionne en dessous de son potentiel, il est jugé comme étant faible qualité.

Un sol assure donc différentes fonctions qui peuvent être définies selon des propriétés et processus physiques, chimiques et biologiques. Une des fonctions majeurs du sol est de participer à différents cycles biogéochimiques, dont celui du carbone. Ainsi, la carbone contenu dans les matières organiques des sols (MOS), impliqué dans de nombreux processus du sol a été identifié et est utilisé comme indicateur permettant de suivre leur évolution (Ohno et al., 2014). En effet, la dégradation des MOS a un impact majeur sur les propriétés physiques, chimiques et biologiques des sols. Elle influence directement les conditions acido-basique et redox des sols, contrôle l'activité et la structure des communautés microbiennes, et est un facteur de la fertilité des sols agricoles (LaRowe et Van Cappellen, 2011). Cependant, à cause de la grande variabilité dans l'espace et le temps, les changements significatifs des teneurs en matières organiques dans les sols sont difficiles à quantifier (Körschens et al., 2006). Par ailleurs il se trouve qu'un des acteurs centraux dans le bouclage du cycle du carbone est la communauté microbienne au sein de l'écosystème sol. En effet, une des composantes biologiques des sols, les microorganismes, participe aux cycles des nutriments et aux propriétés physiques des sols. Lors d'un changement, des conditions environnementales, les communautés de microorganismes sensibles, de par leur rapport surface sur volume élevé, s'adaptent en faisant évoluer leur activité individuelle ou en augmentant les taux de reproduction de certaines espèces (Pankhurst et al., 1995).

Les changements de flux de carbone et d'énergie dans le système sol, reflétant l'activité des communautés microbiennes pourraient ainsi être perçus comme un signal avant-coureur de l'amélioration ou de détérioration d'un sol.

Le phénomène fondamental de transfert d'énergie des producteurs primaires aux décomposeurs est un processus inhérent à un sol en fonctionnement. Ce flux d'énergie stockée sous forme de structures biochimiques organiques est rendu en partie potentiellement disponible pour fournir un travail par l'activité minéralisatrice des communautés microbiennes (LaRowe et al., 2012). Ces dernières vont ainsi, à l'image de la combustion du charbon au sein d'un train à vapeur lui permettant d'avancer, assurer leur fonctionnement physiologique comme la croissance, la reproduction, la communication, le déplacement, le maintien de leur intégrité. De plus, comme une voiture qui selon le modèle peut parcourir des



distances et émettre des quantités de CO<sub>2</sub> différentes pour un même plein d'essence, les activités métaboliques plus ou moins efficaces selon la stratégie écologique de la communauté microbienne en présence dans le sol vont libérer des quantités variables d'énergie et de matière sous forme de chaleur et de CO<sub>2</sub> pour un même niveau énergétique de substrat carboné disponible. Il est envisageable de mesurer les variations du métabolisme des communautés microbiennes par microcalorimétrie (Herrmann et al., 2014).

Si l'estimation des différences de métabolismes des communautés microbiennes hétérotrophes aérobies (Bölscher et al., 2016) était pertinente pour être utilisée comme un indicateur de la qualité organique des sols par sa sensibilité à des changements dans un court délai, il se poserait alors la question du coût et du temps nécessaire aux analyses. En effet, le développement d'un indicateur sensible dans un délai court à des changements et à faible coût est pertinent pour ensuite évaluer la qualité des sols et in fine conseiller les décideurs sur la priorisation de la question de la protection des sols. (Winding et al., 2005)

Il se trouve que Rovira et al. (2008) utilise une méthode par thermogravimétrie rapide et simple, permettant de prendre en compte tout le continuum moléculaire des MOS. Il serait ainsi potentiellement envisageable de relier des indices thermiques, chimiques et biologiques (Plante et al., 2011).

Nous venons de proposer que la qualité écologique des sols, soit la capacité de l'écosystème sol à assurer la réalisation de ses grandes fonctions, pouvait être approchée énergétiquement. Cette approche pourrait consister in fine à l'évaluation de la fonction stockage de carbone dans les sols, qui est liée au processus de transfert d'énergie sous forme de matières organiques participant au cycle du carbone, par les indicateurs de potentielles barrières et sources énergétique des matières organiques (Harvey et al., 2016), et d'efficacité énergétique des communautés microbiennes des sols (Geyer et al., 2016).

Nous souhaitons donc tester les réponses métaboliques des différentes communautés microbiennes présentes dans 6 échantillons de sol à l'apport de différents intrants organiques.

En effet, les intrants organiques dans les sols changent avec des changements d'usage des terres (Riedel et al., 2014) et il a été montré que le réchauffement climatique affecte l'exsudation racinaire des plantes (Yin H. et al., 2013). Dans cette étude les intrants organiques sont des solutions de matières organiques extraites dans des conditions similaires à celles étudiés par Nkhili et al. (2012). Les flux d'énergie dans le système seront étudiés par microcalorimétrie, une méthode adaptée pour étudier les réponses du métabolisme microbien (Bölscher et al., 2016). Afin d'identifier les facteurs régulant ces flux d'énergie, la composition des matières organiques ajoutées et la structure des communautés microbiennes seront mesurées par spectrométrie de masse très haute résolution (Roth et al., 2013) et par séquençage haut débit (Azarbad et al., 2015) respectivement, et mis en relation avec les mesures de la dynamique de dissipation de l'énergie ajoutée. Pour finir, nous déterminerons si les propriétés thermiques des MOS sont des indices pertinents pour relier la qualité des MOS et leur minéralisation par les communautés microbiennes des sols (Harvey et al., 2016).

Les questions posées auxquelles nous chercherons à répondre à travers ce travail sont les suivantes. Comment le métabolisme des communautés microbiennes est-il influencé par des différences dans les profils moléculaires des intrants organiques ? Comment les thermogrammes sont-ils corrélés aux profils énergétiques théoriques des MOS et métaboliques ?



## **2. Synthèse de la littérature scientifique**

### **2.1. L'approche énergétique**

La structure des écosystèmes influence les flux d'énergie et donc une mesure des flux doit renseigner de manière intégrative sur la santé et le fonctionnement du système.

En effet, Odum (1969) nous explique qu'un stress, ou un changement rapide comme l'apport d'intrants (nutriments pour les plantes, pesticides, eau) à un sol peuvent perturber le fonctionnement habituel de cet écosystème. La composition des communautés microbiennes (en terme de variété, équitabilité, stratigraphie) peut être affectée. À la suite de l'action issue de l'extérieur du système, agissant sur ce dernier, exerçant une pression, de potentiels « drains énergétiques » ont lieu pour permettre l'évacuation de cette « surpression » (par analogie à un ballon contenant de l'air). Ainsi, nous pouvons imaginer un sol à l'état stable, émettant de la chaleur issue des communautés microbiennes à un taux constant. Puis l'arrivée de cet apport d'énergie risquerait de produire selon les sols, les communautés microbiennes et les types de MO plus ou moins de chaleurs et de CO<sub>2</sub>.

Nous souhaitons mesurer les flux d'énergie dans le système sol, car comme nous venons de la voir avec Odum (1969), ils sont caractéristiques des écosystèmes.

Depuis peu, il y a une méthodologie très sensible qui permet de faire des mesures d'émissions de chaleur du métabolisme microbien, mais dont le développement en microbiologie a pu être ralenti par trois facteurs. Maskov et Harms (2006) nous montre que le premier concerne la manière d'obtenir un signal avec un minimum de biais. Ainsi, il a fallu attendre que le développement technologique ait in fine conduit à réduire les facteurs pouvant influencer le signal calorifique. En d'autres termes, l'expérimentateur peut de nos jours considérer avec une faible erreur que le flux de chaleur mesuré au cours du temps est égal à la somme de toutes les enthalpies de réaction pour chaque constituant de la matière organique multiplié par l'avancement de la réaction. Les seconds et troisième facteurs sont d'un ordre plus historique et politique. Braissant et al. (2015) affirment qu'après l'invention de la PCR la biologie moléculaire a ignoré beaucoup de techniques dont la microcalorimétrie. De plus c'est même auteurs expliquent qu'il y avait un manque concernant l'enseignement de disciplines comme la bioénergétique et la biothermodynamique dans les filières biologiques.

Les méthodologies utilisant la microcalorimétrie sont utilisées dans différents domaines comme la biologie médicale, les sciences de l'environnement, les biotechnologies. En pharmacie, par exemple, la microcalorimétrie est également utilisée pour mesurer l'activité microbienne après apport de substance d'intérêt, régulant par exemple leur activité (Astasov-Frauenhoffer et al. 2011)

La microcalorimétrie appliquée aux sciences du sol, de l'environnement a été utilisé pour mesurer l'efficacité thermodynamique des communautés microbiennes (Harris et al., 2012). En effet selon la communauté microbienne, il est montré que la part d'énergie qui ne se dissipe pas sous forme de chaleur et qui est stockée sous forme de biomasse varie. Il est montré en particulier que pour les écosystèmes avec un rapport biomasse fongique/biomasse bactérien élevé cette efficacité devrait augmenter. Il semble que plus un écosystème sol est mature, plus sa fonction de protection tend à l'emporter vis-à-vis de celle de production (Odum, 1969). La mesure des flux de chaleurs métaboliques semble pertinente pour refléter l'activité microbienne. Herrmann et al. (2014) ont pu identifier une relation négative entre l'émission totale de chaleur métabolique et le rapport biomasse fongique sur la biomasse bactérienne. De ce résultat, ils ont proposé que la production de mycélium par les populations fongiques, dont les parois membranaires sont composées en partie de chitine, molécule considérée comme peu réactive du fait de sa structure constituée par des monomères d'N-acétyl-glucosamide dont la fonction N-acétyl est stabilisée par des phénomènes de



délocalisation électronique, pouvait être en partie à l'origine de telle différence d'activité métabolique.

Mais pourquoi mesurer la chaleur issue de l'activité microbienne lorsque l'on peut mesurer les émissions de CO<sub>2</sub> ? Cette dernière variable semble pertinente pour mesurer l'activité de communautés microbiennes lorsque l'intrant organique est totalement minéralisé. Toutefois, il arrive que certains composés ne soient minéralisés que de manière incomplète. Herrmann et Bölscher (2015) ont utilisé dans leur expérience le couplage entre mesures microcalorimétriques et chromatographiques en phase gazeuse. Ces mesures permettent d'estimer la chaleur issue du métabolisme microbien et les émissions en CO<sub>2</sub> des communautés microbiennes. À partir de ces données est déterminé le rapport calorespirométrique, soit la quantité de chaleur dissipée sur une période donnée ( $\text{mJ g}^{-1} \text{sol période de temps}^{-1}$ ) divisée par la quantité de carbone composant le CO<sub>2</sub> (CO<sub>2</sub>-C) produite ( $\mu\text{g g}^{-1} \text{sol période de temps}^{-1}$ ). D'après Hansen et al. (2004), cet indice nous renseigne de manière complémentaire aux mesures uniques de CO<sub>2</sub>. Par exemple, ces chercheurs nous montrent qu'une augmentation du rapport précédent pourrait indiquer que plus de molécules organiques réduites (avec une teneur en énergie potentiellement disponible pour réaliser un travail élevé) sont décomposées et/ou que les processus de décomposition ayant eu lieu ont pour conséquence la formation de composés n'ayant pas été totalement minéralisés en CO<sub>2</sub> (métabolisme intermédiaire).

Maskov et Harms (2006) dans leur revue bibliographique concernant l'utilisation de calorimètre pour mesurer les processus biologiques exposent en particulier une étude ayant réussi à déterminer le chemin métabolique suivi lors de la dégradation d'un composé organique par bilan énergétique. Maskov et Paufler (2014) considèrent que la microcalorimétrie « ouvre tout un champ des possibles ». En particulier lorsque la dégradation du substrat organique ou la formation de biomasse sont difficiles à détecter à cause des changements infimes de concentration au cours du temps. Barros et al. (2016) montre qu'il est théoriquement possible de déterminer l'énergie d'activation d'un substrat en mesurant les flux de chaleur en fonction du temps à des températures différentes.

Certains auteurs n'hésitent pas à émettre un regard critique. Braissant et al. (2010) constatent que les données microcalorimétriques étant difficiles à interpréter, des chercheurs réalisent des analyses complémentaires renseignant sur certaines caractéristiques microbiennes. De cette façon des données en provenance de technique comme la densité optique ou le comptage de cellules mise en relation avec les spectres métaboliques peuvent apporter une aide à l'interprétation des résultats. À titre d'exemple, certaines études trouvent des corrélations entre la production de chaleur et le nombre de cellules de champignons et bactérie en vie ou bien une plus faible production de chaleur serait corrélée à l'augmentation de la densité de population (Braissant et al., 2013). Ce dernier point pouvant trouver sa source dans des changements de stratégie métabolique plus efficiente en terme d'émission de chaleur qui auraient lieu. Mais bien souvent, Braissant et al. (2010) trouvent que des chercheurs publient des données microcalorimétriques non accompagnées de mesures microbiologiques pouvant confirmer ou non leurs interprétations. Ces mêmes auteurs discutent des tentatives de certains dans l'interprétation des courbes de flux de chaleurs, en relation avec différents modèles de croissances microbiennes. Ils pointent le fait que souvent les hypothèses d'application de ces modèles ne sont que trop peu discutées. En effet, les modèles microbiens sont fondés sur certaines hypothèses, valables pour des cultures d'espèce pure (étant donné que la plupart des études microcalorimétriques mesurant des flux de chaleurs les étudient). La robustesse de ces hypothèses semble plus fragile lorsque sont mesurés les flux de chaleur à l'échelle d'une



communauté microbienne et recevant de plus l'apport de substrat non pas unique, mais composé de plusieurs centaines de molécules différentes.

Il se trouve que la plupart des expériences microcalorimétriques ont été réalisées dans des conditions aérobiques. Cependant, dans la réalité une partie des sols (par exemple au cœur de certains agrégats) est privée d'O<sub>2</sub>. Ainsi dans ces conditions redox différentes, les rendements énergétiques associés à la dégradation d'une MO avec comme accepteur final d'électron le O<sub>2</sub> changent. Un facteur limitant thermodynamique peut être intégré à la cinétique générale de minéralisation de la matière organique. (LaRowe et al., 2012). Ainsi, il serait envisageable de suivre ces variations de cinétique par microcalorimétrie dans des situations où les sols sont privés de dioxygène, comme après une pluie, ou lorsqu'il est compacté ou encore dans des horizons plus en profondeur.

## **2.2. Elucider la composition moléculaire des matières organiques**

Nous avons pu voir dans l'introduction que le fonctionnement des cycles biogéochimiques fait intervenir à propos de l'écosystème sol des molécules organiques et des communautés microbiennes. Pour le cas particulier des communautés microbiennes hétérotrophes aérobies, ces molécules sont une source de squelettes carbonés pouvant être considérés en particulier comme des briques fondamentales pour assurer leur activité anabolique. Par ailleurs, ces molécules sont également une forme de stockage d'énergie électrochimique potentiellement convertissable par les communautés microbiennes à travers leur catabolisme (Burgin et al., 2011). LaRowe et Van Cappellen (2011) nous expliquent qu'il est possible d'approcher le potentiel énergétique de chaque composé biochimique. Ce potentiel peut être lié au nombre d'électrons transférables lors de la minéralisation de ce composé. Chaque constituant des MOS est caractérisé par une valeur d'état d'oxydation moyen de ces atomes de carbone (NOSC en anglais pour Nominal Oxidation State of Carbon) qui peut être déterminée par le ratio de leurs principaux atomes. Cette valeur nous renseigne sur le potentiel nombre moyen d'électrons transférable par atome de carbone au cours de la réaction d'oxydation d'un composé organique. De plus, ces mêmes auteurs ont montré qu'il existait une corrélation négative entre cette NOSC et l'enthalpie libre de Gibbs dans des conditions standard de la demi-réaction d'oxydation du même composé. Cette dernière caractéristique propre à chaque MO nous renseigne sur l'énergie à fournir pour permettre la réalisation de cette demi-réaction d'oxydation. Ainsi, plus un composé a une NOSC élevée, plus il y a d'électrons transférés par atome de carbone, et plus le coût unitaire du transfert d'électron est réduit.

Nous venons donc de voir qu'une matière organique peut transférer plus ou moins d'électrons par atome de carbone et que cette connaissance résumée sous l'indice de NOSC sert au calcul de l'énergie nécessaire pour oxyder les molécules composant une matière organique du sol ( $\Delta G^{\circ}_{Cox}$ ). Il est également possible d'estimer le potentiel catabolique de la réaction générale d'oxydoréduction entre la matière organique et un accepteur final d'électron ( $\Delta G^{\circ}$ ). Les mêmes auteurs nous renseignent sur le fait que dans des conditions aérobiques, à pression atmosphérique, pour une température de 25 °C avec des concentrations non limitantes en composés organiques le rendement énergétique de la minéralisation de ces molécules est toujours très supérieur à la barrière énergétique propre à chaque MO.

Dans notre travail, nous cherchons à étudier les flux à travers le sol. Il serait donc intéressant de tester si la forme de l'énergie apportée au sol sous forme d'intrant organique, qui nécessite un investissement variable pour y accéder, influence les dissipations de chaleurs métaboliques ou les émissions de CO<sub>2</sub> originaire de l'activité microbienne.



Nous proposons qu'il peut être pertinent pour cela de mesurer ces formes d'énergie par spectrométrie de masse haute résolution. Toutefois cela ne sera pas réalisé au cours de ce travail.

Le développement de la spectrométrie de masse haute résolution a permis d'explorer la diversité moléculaire des MO dans différents écosystèmes tant aquatiques que terrestres (Seifert A.-G. et al., 2016). Les auteurs ont au fil des années cherché à relier les données des masses molaires exactes des différents fragments à la composition moléculaire correspondante en développant par exemple des algorithmes (Kujawinski et Behn, 2006). Il se trouve que plus la masse molaire et le nombre d'atomes possibles dans le fragment moléculaire augmentent, plus il y a de formules brutes possibles qui sont proposées pour une même masse molaire (Koch et al., 2007). Ainsi certains chercheurs comme Herzprung et al. (2014) ont défini un protocole permettant de réaliser une sélection entre les différentes formules proposées. Une fois les ratios atomiques de chaque molécule obtenus, divers indices peuvent donner du sens à ces dernières (Rossel et al., 2013). Les rapports atomiques O/C et H/C sont utilisés pour construire des diagrammes de van Krevelen (un moyen simple pour identifier de manière « approximative » à quelles catégories biochimiques (lipides, sucre, peptide, lignine, tannin) appartient chaque molécule. L'index d'aromaticité renseigne sur le degré d'insaturation au sein de chaque molécule.

Il existe des résultats de travaux étudiant le fonctionnement des écosystèmes utilisant la spectrométrie de masse. Par exemple, Roth et al. (2013) ont cherché à étudier l'impact des facteurs environnementaux comme le pH, la latitude ou la composition de la végétation (Roth et al., 2013) sur la composition moléculaire de leur échantillon de MO. Ils ont montré en particulier que la température et le pH sont les principales variables influençant la composition biochimique des MO de leurs échantillons issus de rivières, de forêts et de tourbières. Par ailleurs, ils ont identifié des composés communs à tous les écosystèmes, mais également certains composés qui leur étaient spécifiques. Par exemple, ils montrent que les composés spécifiques à chaque écosystème avec un faible pH originaires de la forêt et de la tourbière sont moins saturés que ceux issus de prairies et rivières.

### **2.3. Caractériser thermiquement les matières organiques**

Nous voulons identifier une relation entre thermogrammes et flux métaboliques, car la première méthode est plus simple et moins coûteuse.

À l'origine utilisée dans la métallurgie, puis en minéralogie pour étudier les argiles, les matières organiques des sols sont devenues des sujets d'études expérimentales utilisant la méthodologie de l'analyse thermique (Plante et al., 2009)

Les analyses thermiques peuvent être de plusieurs natures et à la suite du développement des technologies les instruments de mesure ont pu être couplés entre eux. Plante et al. (2009), dans leur revue sur les analyses thermiques, présentent en particulier trois techniques : la thermogravimétrie où l'expérimentateur mesure l'évolution de la masse de l'échantillon en fonction de la température du four ; le scan différentiel calorimétrique (DSC pour l'anglais differential scanning calorimetry) où cette fois les énergies apportées à l'échantillon sont mesurées comme fonction de la température du four et les quantités de chaleur émises (exothermes) et captées (endothermes) mesurées ; l'analyseur de gaz où la quantité de produits de réaction thermique gazeux émis est mesurée.



L'analyse thermique a conduit à plusieurs résultats en science du sol. La demande en indices peu coûteux pour évaluer la qualité des sols, en particulier la qualité des matières organiques, la qualité des biochars ont pu conduire à l'engouement pour cette méthodologie.

Peltre et al. (2013) ont cherché à relier par exemple des indices thermiques, chimiques et microbiologiques. En particulier, ils ont déterminé des indices thermiques comme la densité énergétique soit l'énergie libérée en réponse à l'oxydation du composé et la CO<sub>2</sub>-T50, un indice correspondant à la température à partir de laquelle 50 % du CO<sub>2</sub> total a été émis, approchant l'énergie nécessaire à l'oxydation de 50 % du composé.

D'autres indices de récalcitrance ont été développés par Harvey et al. (2012). La T50 soit la température à partir de laquelle 50 % de la masse de l'échantillon a diminué permet la détermination de la R50. Ce dernier indice correspond à la proportion de l'énergie nécessaire pour oxyder 50 % de la masse de graphite ayant servi pour oxyder 50 % de l'échantillon d'intérêt. Un des buts de ces auteurs était de pouvoir définir une échelle de mesure de la stabilité thermique pouvant être réutilisée dans d'autres études.

Concernant la mesure de l'énergie libérée lors de l'oxydation d'un composé, nous avons vu que la densité énergétique pouvait être approchée par DSC. Toutefois, cette énergie nette peut également être mesurée par bombe calorimétrie (Harvey et al., 2016). Cet indice de qualité de la matière organique reflète donc l'énergie stockée dans la molécule. Par exemple, une molécule qui a de nombreuses insaturations entre ses atomes de carbones devrait avoir un potentiel énergétique plus faible par liaison qu'une molécule avec uniquement des liaisons simples (Harvey et al., 2016). D'après ces mêmes auteurs la raison se trouve dans le fait que l'enthalpie d'oxydation, soit la chaleur libérée par liaison rompue soit plus faible lors de la rupture d'une insaturation entre deux atomes de carbone plutôt que lors de la rupture de liaison simple entre deux atomes de carbone.

Havrey et al. (2016) ont développé un indice réunissant les concepts de qualité et récalcitrance thermique des matières organiques à l'origine développé par Rovira et al. (2008). Cet indice se construit en divisant l'énergie nette (mesuré par exemple par bombe calorimétrie) par l'énergie d'activation (ayant été au préalable déterminé). Si les valeurs de cet indice de retour sur investissement augmentent, Harvey et al. (2016) montrent que la minéralisation de la matière organique augmente. Si cet indice est supérieur à 1, l'oxydation de ce composé peut se réaliser par métabolisme direct du fait d'un bénéfice suffisant malgré l'investissement réalisé pour y accéder. S'il est inférieur à 1, du cométabolisme au sein de la communauté microbienne est favorisé à cause de la présence de composés avec une valeur énergétique chimique trop faible. Ces mêmes auteurs suggèrent qu'il est presque possible d'identifier des voies métaboliques de la dégradation des composés organiques à partir d'indices thermiques.

Leifeld et Von Lützow (2014) nous rappellent que l'énergie d'activation chimique d'une MO pouvant être déterminée par analyse thermique est dite conservative. C'est-à-dire qu'en comparaison avec l'énergie d'activation de la minéralisation par les communautés microbiennes hétérotrophe, l'énergie d'activation chimique est plus élevée. En d'autres termes, les communautés microbiennes peuvent oxyder une matière organique à température ambiante alors que thermiquement une température par exemple de 450 °C pourrait être nécessaire. Cependant, les mêmes auteurs nous mettent en garde, lorsque les matières organiques sont complexées ou liées de manière covalente avec des argiles ou oxydes métalliques cette énergie d'activation de minéralisation risque d'être modifiée.

Peltre, et al (2013), montre que selon la minéralité d'un sol, les mécanismes de stabilisation des matières organiques diffèrent. Dans les sols fortement minéraux, les MO du sol auraient

Traitement	Rendement <sup>a</sup> en %	TOC <sup>b</sup> en mg L <sup>-1</sup>	IC <sup>c</sup> en mg L <sup>-1</sup>	Corg <sup>d</sup> en mg g <sup>-1</sup> WEOM	N <sup>e</sup> en mg g <sup>-1</sup> WEOM	C/N
WEOM bois rural	0,14±0,02 a	54,11±5,61 b	10,08±0,89 a	246,79±4,56 b	27,51±1,65 d	8,98±0,42 a
WEOM bois périurbain	0,18±0,05 ab	64,16±10,45 b	18,29±5,28 ab	229,82±20,79 b	20,41±5,19 c	11,64±2,32 ab
WEOM bois urbain	0,23±0,02 b	48,95±10,09 b	22,68±1,08 b	160,40±3,68 a	13,67±0,53 abc	11,73±0,35 b
WEOM prairie rurale	0,19±0,05 ab	60,00±6,94 b	33,31±6,89 c	206,32±23,17 b	20,10±2,05 bc	10,25±0,27 ab
WEOM prairie périurbaine	0,18±0,04 ab	45,81±6,39 ab	18,94±1,13 ab	138,47±15,80 a	13,51±1,47 ab	10,24±0,12 ab
WEOM prairie urbaine	0,11±0,04 a	25,23±2,77 a	25,67±1,57 bc	126,19±9,42 a	13,17±1,21 a	9,59±0,22 ab

Les résultats sont présentés avec la moyennes (n=3) ± l'écart-type. Les lettres identiques indiquent des moyennes significativement non différentes en prenant un risque alpha de 0,05 en utilisant l'ANOVA à 1 facteur et le test de comparaison multiple Tukey HSD.

<sup>a</sup> Le rendement d'extraction a été obtenu en divisant la masse de lyophilisat de WEOM par la masse de sol utilisé lors de l'extraction.

<sup>b</sup> Carbone organique total mesurée lors de l'extraction des WEOM à 60°C pendant 30 min après filtration à 0,7µm.

<sup>c</sup> Teneur en carbone inorganique mesurée lors de l'extraction des WEOM à 60°C pendant 30 min après filtration à 0,7µm.

<sup>d</sup> Teneur en carbone organique après décarbonatation du lyophilisat de WEOM.

<sup>e</sup> Teneur en azote après décarbonatation du lyophilisat de WEOM.

tendance à être davantage adsorbées, protégées physiquement et chimiquement de leur oxydation. À la différence, les sols très riches en matières organiques où des formes de récalcitrance spatiale seraient majoritaires. Ainsi, les sites réactionnels ne pourraient être atteints par les enzymes extracellulaires produites par les communautés microbiennes, limitant de fait la cinétique de minéralisation.

Nous venons donc voir différents résultats issus des travaux utilisant les analyses thermiques. Il semble donc possible d'analyser une matière organique suivant cette méthodologie et de pouvoir identifier différents groupes de matières organiques avec des qualités et récalcitrances qui leur sont propres. Toutefois, les associations MO aux argiles et oxydes métalliques, qui semblent être des phénomènes importants dans le fonctionnement d'un sol, à l'image du complexe argilo-humique, perturbent le signal des thermogrammes et demandent des travaux supplémentaires pour mieux interpréter les spectres thermiques (Plante et al., 2005)

## **3. Matériels et méthodes**

### **3.1. Démarche générale de notre étude**

Dans cette étude nous allons approcher les potentielles conséquences des différences de MOS sur le métabolisme des communautés microbiennes par celles entre des matières organiques de sols extraites à l'eau (WEOM) de faibles masses molaires moléculaires sous différentes végétations (forêt et pelouse) et sous différents territoires (rural, périurbain, urbain). Ces extraits seront analysés en infusion par spectrométrie de masse haute résolution afin de déterminer leur profil moléculaire. Ce profil nous renseignera sur les différences de compositions entre les WEOM. Ces mêmes extraits seront alors ajoutés aux échantillons de sols initiaux afin de déterminer le lien entre les différences des profils énergétiques des WEOM et celles des profils métaboliques des communautés microbiennes hétérotrophes aérobies. La structure de ces communautés microbiennes, influençant le métabolisme de ces dernières, sera déterminée par le séquençage d'extraits d'ADN des sols par un laboratoire prestataire. Les WEOM seront par ailleurs analysées par DSC et bomb calorimetry afin d'approcher leur valeur énergétique et leur barrière à cette accès par le métabolisme des communautés microbiennes des sols. Les similarités dans les profils moléculaires, métaboliques et thermiques seront analysées par tests de Mantel et les relations entre leurs indices respectifs étudiées par analyses de corrélations.

### **3.2. Echantillonnage des sols.**

Les sols à partir desquels les extractions de la matière organique soluble ont eu lieu ont été obtenus en septembre 2015 dans le cadre d'un projet sur l'urbanisation (Ecoville). Les sols à partir desquels les analyses calorimétriques et les extractions d'ADN ont été réalisées ont été collectés en juin 2016. Les sols issus de ces deux campagnes d'échantillonnage proviennent de 6 sites, la moitié sous végétation herbeuse et l'autre sous une végétation arborée : un sol sableux sous un bois en milieu rural à l'Est de Paris à Changis-sur-Marne (Lat 48.967305°N, long 3.024922°E), un sol alluvionnaire sous une pelouse d'un parc à proximité de la rivière la Marne en milieu rural à l'Est de Paris à Changis-sur-Marne (Lat 48,952708°N, long 3,013758°E), un sol sableux sous un bois en milieu périurbain à l'ouest de Paris à Bures-sur-



Yvette (Lat 48,693488 °N, long 2,138752 °E), un sol alluvionnaire argileux sous une prairie à proximité d'un ruisseau en milieu périurbain à l'ouest de Paris à Bures-sur-Yvette (Lat 48,699208°N, long 2,144033°E), un sol de remblais sous un bosquet arboré dans le parc de la Butte Chaumont à Paris (Lat 48,876425°N, long 2,381111°E), un sol d'éboulis sous une pelouse du square Pali Kao à Paris (Lat 48,870783°N, long 2,383263°E).

Trois prélèvements de sols (500g chacun) à moins de 5 mètres de distance les uns des autres ont été réalisés sur chaque site. Les prélèvements ont eu lieu entre 10 et 15 cm à partir de la couche organo-minérale. Les échantillons ont été placés dans des sacs en plastique et transportés en présence de poches de glace. Les sols de chaque site ont ensuite été mis en commun, mélangés et homogénéisés manuellement.

Les sols prélevés en septembre 2015 ont été tamisés à 2 mm, séchés à l'air ambiant pendant 15 jours puis stockés à 25 °C à l'obscurité pendant 9 mois. Les échantillons de sols frais prélevés en juin 2016 ont été tamisés à 2mm et stockés à 4 °C sur une période de 2 mois.

Tout le matériel utilisé a été nettoyé à l'eau et avec des produits antimicrobiens entre chaque utilisation avec un sol différent

### **3.3. Extraction des matières organiques du sol.**

Les matières organiques ont été extraites selon la procédure adaptée à partir de Nkhili et al. (2012). Des suspensions de sols, issus de la première campagne d'échantillonnage, ont été réalisées dans un ratio (sol/eau=1/10). Les échantillons ont été mis dans des erlenmeyers. Les extractions ont été menées à une température de 60 °C pendant une durée de 30 min sous agitation mécanique. Après extraction, les échantillons ont été centrifugés à 10,000 rpm pendant 10 min. Le surnageant a ensuite été filtré à 0,7 micromètres avec un filtre Sartorius en fibre de verre. La solution est ensuite lyophilisée. Le lyophilisat est finalement stocké dans l'obscurité à température ambiante.

Les rendements d'extraction en lyophilisat sont calculés comme le ratio entre la masse de lyophilisats obtenue et la masse de sols utilisée pour l'extraction (Tableau 1).

#### **3.3.1. Les analyses du carbone organique totale (TOC)**

Un Shimadzu (dont le modèle du détecteur est le TOC 5050A et celui de l'autosampler ASI-5000A) et un microanalyseur CHN ont été utilisés pour l'analyse du carbone organique.

La teneur en TOC a été calculée comme la différence entre le carbone total et le carbone inorganique. Les mesures ont été réalisées à partir des solutions d'extraction de WEOM entre les étapes de filtration et de lyophilisation.

Concernant le second appareil, il a été calibré à partir de tyrosine dont les masses allaient de 0,1 mg à 2 mg. Les mesures ont été réalisées à partir de 1 mg de lyophilisat de WEOM ayant au préalable subi une étape de fumigation afin d'éliminer le carbone inorganique. (Harris et al., 2001)



### 3.4. Spectrométrie de masse

Nous avons analysé chaque type de WEOM correspondant à une extraction à partir du sol d'un site et un contrôle sans WEOM composé uniquement de la solution servant à l'analyse (n=7) en infusion par spectrométrie de masse en mode en électrospray négatif.

Les lyophilisats de WEOM sont solubilisés selon le mode d'ionisation dans 25 % de méthanol et 75 % d'eau ultrapure pour le mode négatif et dans 25 % de méthanol, 75 % d'eau ultrapure et 1 % d'acide formique pour le mode positif. Les blancs sont préparés respectivement avec les mêmes proportions. Ces préparations sont effectuées de manière à minimiser la période de stockage pour éviter la réaction des réactifs en solution pouvant conduire à l'obtention de données ESI-MS (Electrospray ionization –mass spectrometer) non représentatives (MacIntyre et McRae, 2005). La solution obtenue a une concentration en Corg originaire des lyophilisats de WEOM de  $1\text{mg.mL}^{-1}$ . Les échantillons mis dans des tubes eppendorfs sont centrifugés à 13,000 rpm pendant 15 min. Cette dernière étape équivalant à une filtration à  $0,2\mu\text{m}$ .

Les analyses du surnageant ont été faites dans la plateforme analytique du laboratoire UMR 782 INRA/AgroParisTech Génie et microbiologie des procédés alimentaires, sur le site de GRIGNON. Elles ont été réalisées à l'aide d'un spectromètre de masse haute résolution (HRMS), par infusion directe des solutions (Q Exactive (Thermo)). L'ionisation des molécules se fait par électrospray (ESI) négatif. Les analyseurs, servant à séparer les ions sont constitués d'un quadripole et d'une trappe ionique (C-Trap). La séparation finale des ions et leur détection se fait par un orbitrap (Harakat D., 2011).

Une fois les analyses réalisées, nous obtenons des spectres de masses brutes. Nous allons ensuite les nettoyer. Le bruit a été estimé pour déterminer la valeur du filtre signal sur bruit à appliquer. Les pics de masse dont les intensités avaient une valeur de signal sur bruit de 5 ou plus ont été conservés (Cao et al., 2015). Les intensités de chaque pic de masse sont ensuite divisées par la somme des intensités de chaque pic au sein d'un même échantillon. Nous pouvons ainsi déterminer pour chaque échantillon une valeur minimale d'intensité relative. A l'échelle de l'ensemble des échantillons analysés, la valeur minimale d'intensité relative la plus grande est utilisée comme la valeur minimale d'intensité relative pour tous les échantillons. Ainsi, tous les pics avec une valeur d'intensité relative inférieure à cette dernière valeur ont été supprimés. Ceux avec une valeur d'intensité relative inférieure à 2 fois cette valeur minimale d'intensité relative pour tous les échantillons ont été fixés à 2 fois celle-là (Riedel et al., 2014). De cette manière la variabilité entre échantillons due aux pics ayant des intensités relatives proches de la limite définie plus précédemment a été diminuée.

Les pics des différents échantillons ont ensuite été alignés, c'est-à-dire que les pics n'ayant pas été détectés dans un échantillon prennent zéro comme valeur d'intensité relative. Ainsi nous obtenons un tableau de données avec en lignes chaque échantillon de WEOM (n=6, en colonnes les différents pics et à l'intersection les intensités relatives de chaque pic de masse.

**Tableau 2** Principaux paramètres caractérisant les sols.

Traitement	C total <sup>a</sup> (mg g <sup>-1</sup> )	N total <sup>b</sup> (mg g <sup>-1</sup> )	Rapport atomique C/N	Teneur en eau incubation <sup>c</sup> (mg g <sup>-1</sup> )	Capacité thermique <sup>d</sup> (J g <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup> )	Ratio Calorespirométrique <sup>e</sup> (mJ µg <sup>-1</sup> CO <sub>2</sub> -C)	Q-T50 <sup>h</sup> (h)	ADN <sup>o</sup> (ng µL <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> )
Sol bois rural	21,0±0,1 a	1,8±0,1 a	11,1±0,1 a	240,3	1,6547	67±29 ab	4,9±0,4 a	155,9±43,6 c
Sol bois périurbain	38,4±0,1 a	1,9±0,1 b	19,3±0,1 b	131,3	1,3060	43±11 c	9,9±1,1 c	35,8±14,6 a
Sol bois urbain	70,1±0,6 b	3,2±0,1 e	21,3±0,2 b	183,8	1,5116	62±30 abc	6,1±0,5 b	95,3±47,6 b
Sol prairie rurale	107,7±25,6 c	4,7±0,1 f	19,5±0,1 b	182,7	1,5433	43±16 c	4,7±0,3 a	121,9±21,9 bc
Sol prairie périurbaine	26,7±0,3 a	2,4±0,1 d	10,9±0,1 a	279,8	1,7924	48 ±16 bc	4,3±0,5 a	65,2±21,8 ab
Sol prairie urbaine	29,7±0,3 a	2,2±0,1 c	13,4±0,1 a	194,9	1,5108	79±30 a	6,2±0,5 b	75,7±29,3 ab

Les résultats sont présentés avec la moyennes ± l'écart-type. Si l'écart-type non présenté alors n=1. Les lettres identiques indiquent des moyennes significativement non différentes à 0,05% en réalisant une ANOVA à 1 facteur et un test de comparaison multiple Tukey HSD.

<sup>a</sup> Teneur en carbone total mesuré par un analyseur élémentaire (n=3)

<sup>b</sup> Teneur en azote total mesuré par un analyseur élémentaire (n=3)

<sup>c</sup> Teneur en eau des sols à la capacité de rétention lors de l'incubation à 25°C pendant 4 jours avant analyse microcalorimétrique (calculée en déterminant la quantité d'eau à rajouter pour être à un pF de 2,5) (n=1)

<sup>d</sup> Capacité thermique en joule par gramme de sol par kelvin (à partir de laquelle la quantité d'eau pour l'ampoule de référence a été préparée) ; hypothèse concernant les capacités thermiques d'eau = 4,18 J g<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>, quartz/minéraux=0,83 J g<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup> et bois/matières organiques=1,3 J g<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>. (n=1)

<sup>e</sup> Rapport entre le flux de chaleur métabolique sommé de 1h à 24h et la teneur en carbone issue du CO<sub>2</sub> émis de 1h à 24h après ajout des intrants en solution sur les différents sols et soustraction des flux issus des échantillons ayant reçu de l'eau (n=6)

<sup>h</sup> Temps au bout duquel 50% de Q<sub>WEOM</sub> totale émise. (n=6)

<sup>o</sup> Concentration d'ADN obtenue après extraction et purification (Kit Biomedical) normalisé par gramme de sol (masse sèche) contenu dans un volume de 100 µL. (n=3)

## **3.5. Microcalorimétrie**

### **3.5.1. Échantillonnage des sols**

Avant chaque expérimentation microcalorimétrique, chaque sol a été mis à incuber 4 jours à 25 °C avec une teneur en eau ajustée afin de rétablir un état d'équilibre suite aux précédentes perturbations : l'échantillonnage, le mélange, le tamisage, le refroidissement, l'ajustement de la teneur en eau des sols (Poeplau, et al., 2016).

La teneur en eau des différents sols issue de la seconde campagne d'échantillonnage a été déterminée après tamisage à 2 mm et ajustée à un pF 2,5 (Tableau 2) selon une méthode adaptée de celle de la presse à membrane de Richards (Ugarte Nano, 2015). 20 g de sol est mis à saturation pendant 24 h dans des coupelles en plastique composé à la base d'une toile de Nylon. La plaque de silice préalablement mise à saturer pendant 24 h est recouverte par de la kaolinite. Cette dernière est humidifiée afin d'obtenir une pâte homogène sur la plaque. Les coupelles contenant les sols saturés sont déposées sur la plaque en silice. L'ensemble est ensuite déposé dans une presse de Richard à P=20mbar pendant 5 jours jusqu'à ce qu'il n'y ait plus d'eau s'évacuant du capillaire. Les sols sont ensuite mis à l'étude à T=105 °C pendant 24 h. Il est ainsi possible d'ajuster la teneur en eau des sols en calculant la quantité d'eau à rajouter aux sols tamisés pour qu'ils puissent avoir une teneur en eau équivalente à celle du même sol à un pF de 2,5.

### **3.5.2. Installation expérimentale et mesures.**

Nous avons combiné chaque sol correspondant à un site avec 7 traitements de laboratoires : un contrôle sans addition de nutriments et six solutions de matières organiques extraites d'échantillons des mêmes sites. Tous les mélanges ont été préparés en quadruplicat, constituant un total de 168 échantillons (6 sols x 7 traitements x 4 réplicats = 168).

Tous les amendements ont été mélangés avec de l'eau ultrapure, alors que les échantillons contrôles ont reçu la même quantité d'eau ultrapure que celle ajoutée aux autres échantillons (0,1 mL.g soil<sup>-1</sup>). La quantité de carbone organique ajoutée est de 0,3 mg C<sub>org</sub> g sol. Des tests préliminaires ont montré que cette concentration était suffisante pour la détection d'un signal. 5 g de sol (masse sèche) ont été ajoutés à des vials en verre d'un volume de 22 mL et la solution ajoutée goutte à goutte. Après ajout des solutions, les vials sont scellées et placées à l'intérieur du calorimètre isotherme TAM Air (TA Instruments, Sollentuna, Sweden) à une température de 25 °C.

La production de chaleur est suivie pendant 24 heures, après quoi les échantillons sont retirés du microcalorimètre. Un échantillon de l'atmosphère du flacon en verre est prélevé pour l'analyse ultérieure de la teneur en CO<sub>2</sub> en µg CO<sub>2</sub>-C émis par gramme de sol (Poeplau et al., 2016). Il a été montré que les émissions cumulées de chaleur et de CO<sub>2</sub> étaient approximativement linéaires. (Herrmann et Bölscher, 2015). Nous avons ainsi rapporté notre quantité total de CO<sub>2</sub> (émise dès l'instant où nous avons ajouté l'intrant jusqu'au moment de notre prélèvement) à la quantité théoriquement produite de 1h à 24h (période de temps identique à celle où les mesures de chaleur émise ont été réalisées).

Nous avons été en mesure d'analyser 24 échantillons en une journée, la durée totale de l'expérience s'est étendue sur 1 mois et demi. Les échantillons ont été analysés de manière aléatoire.

**Tableau 3** Principaux indices métaboliques et thermiques caractérisant les MO.

Traitement	Masse WEOM <sup>a</sup> (mg g <sup>-1</sup> )	Densité énergétique <sup>b</sup> (J mg <sup>-1</sup> WEOM)	$\Delta H$ WEOM <sup>c</sup> (J g <sup>-1</sup> de sol)	$\Delta H$ WEOM ajoutée dissipée <sup>d</sup> (%)	Corg ajouté minéralisé (%) <sup>e</sup>	CO <sub>2</sub> -T50 <sup>^</sup> (°C)
WEOM bois rural	1,26±0,07 a	7,033	8,862	0,178±0,020 b	0,115±0,057 a	390
WEOM bois périurbain	1,35±0,06 b	10,38	14,014	0,143±0,012 a	0,145±0,086 a	445
WEOM bois urbain	1,91±0,05 d	7,597	14,510	0,148±0,011 a	0,136±0,049 a	399
WEOM prairie rurale	1,50±0,06 c	9,839	14,759	0,181±0,012 b	0,229±0,090 b	452
WEOM prairie périurbaine	2,17±0,08 e	6,415	13,921	0,166±0,012 b	0,181±0,098 ab	379
WEOM prairie urbaine	2,40±0,08 f	7,079	16,990	0,179±0,015 b	0,183±0,086 ab	457

Les résultats sont présentés avec la moyennes ± l'écart-type. Si l'écart-type non présenté alors n=1. Les lettres identiques indiquent des moyennes significativement non différentes à 0,05 en utilisant l'ANOVA à 1 facteur et le test de comparaison multiple Tukey HSD.

<sup>a</sup> Quantités de lyophilisat de WEOM solubilisé dans 100 µL d'eau ultrapure ajoutée par gramme de sol (poids sec). Masses de lyophilisats équivalentes à 0,3mg de Corg par gramme de sol. (n=24)

<sup>b</sup> Valeurs de l'énergie libérée par mg de WEOM lors de l'oxydation complète du lyophilisat de WEOM mesurées par thermogravimétrie pour la WEOM de bois rural et par bombe calorimétrie pour les autres échantillons (n=1)

<sup>c</sup> Energie apporté au sol sous forme de WEOM et considérées comme potentiellement disponible pour les communautés microbiennes. Valeurs déterminées à partir de la densité énergétique de chaque intrant (J mg<sup>-1</sup> WEOM) multipliée aux masse de WEOM ajouté par gramme de sol. (n=1)

<sup>d</sup> Proportion de l'énergie potentiellement disponible aux communautés microbiennes qui a été dissipée sous forme de chaleur. Valeurs égale à QWEOM /  $\Delta H$  WEOM où QWEOM = chaleur totale dissipée qui a été mesurée par microcalorimétrie sur de 1h à 24h après ajout de l'intrant après que la chaleur émise par les échantillons de sol ayant reçu de l'eau ait été soustraite. (n=6)

<sup>e</sup> La proportion de Corg ajouté au sol et potentiellement disponible aux communautés microbiennes qui a été minéralisée sous forme de CO<sub>2</sub> sur la période de 1h à 24 h à 25°C. (n=19)

<sup>^</sup> Indice thermogravimétrique de récalcitrance des matières organiques. Il correspond à la température à laquelle 50% du CO<sub>2</sub> total à la fin de l'expérience a été émis après oxydation thermique de 200°C à 615°C. (n=1)

Pour calculer le flux de chaleur métabolique [ $\text{mJ}\cdot\text{g sol}^{-1}$ ], nous avons utilisé la production de chaleur entre 1h et 24h, comme le calorimètre nécessite un minimum de 45 min pour que le signal puisse être considéré comme pertinent. Nous avons ensuite soustrait à cette quantité de chaleur celle émise par les sols ayant reçu de l'eau ultrapure.

Nous avons ensuite normalisé ce flux de chaleur métabolique par la densité énergétique des intrants ajoutés (cet indice ayant été déterminé par bomb calorimetry sauf pour une MO qui l'a été par DSC). De manière analogue, pour avoir un ordre d'idée de la part du carbone organique apportée au sol minéralisée nous avons divisé la teneur de  $\text{CO}_2$  émise par la teneur en  $\text{C}_{\text{org}}$  des solutions ajoutés aux sols (Tableau 3). A partir ces valeurs, nous avons pu déterminer un indice calorespirométrique ( $\text{mJ } \mu\text{g}^{-1}$  de  $\text{CO}_2\text{-C}$ ) en divisant les flux cumulés de chaleur métabolique par ceux de  $\text{CO}_2$ .

### 3.6. Extraction et purification de l'ADN des sols

L'ADN a été extrait à partir de 0,5 g de sol en utilisant des tubes Lysing matrix E de 2 mL et un broyeur FastPrep-24 (MP-Biomedicals France) pour lyser les cellules. Cette étape est suivie par la purification de l'ADN en utilisant un kit pour sol FastDNA Spin (MP-Biomedicals). Le protocole du fabricant a été suivi avec attention.

Les 0,5 g (poids humide) d'échantillons de sol sont ajoutés à 975  $\mu\text{L}$  de de tampon sodium phosphate dans des tubes Lysing matrix E (MP-Biomedicals) de 2,0 mL contenant des boules en silice et en verre de différents diamètres. 122  $\mu\text{L}$  de tampon MT (MP-Biomedicals) a été ajouté. Les cellules sont lysées chimiquement et mécaniquement pendant 40s à une vitesse de 6,0 m.s au sein d'une machine FastPrep-24 (MP-Biomedicals). Le lysat est ensuite centrifugé à 14 000 tpm pendant 10 min pour être clarifié. 700  $\mu\text{L}$  du surnageant contenant l'ADN est ensuite transféré dans des tubes stériles de 2 mL. Les protéines sont précipitées en utilisant 250  $\mu\text{L}$  d'une solution à forte teneur en sel (Tampon PPS) et éliminées par centrifugation (comme ci-dessus). Le surnageant contenant l'ADN est mélangé avec une « Binding matrix » pendant 2 min pour que l'ADN s'adsorbe à la silice. La matrice adsorbante est ensuite transférée dans un filtre rotatif (Kit FastDNA Spin, MP-Biomedicals) et rincée à l'aide de 500  $\mu\text{L}$  d'une solution de lavage de sels et d'éthanol (SEWS-M). Les ADN restent dans le filtre adsorbés sur à la matrice, alors que la solution de lavage est quant à elle jetée. Après séchage à l'air ambiant pour laisser s'évaporer l'éthanol résiduel, les molécules d'ADN sont éluées par 2 rinçages successifs à l'aide 50  $\mu\text{L}$  d'eau ultrapure. Les extraits d'ADN « sales » sont une seconde fois purifiées en utilisant une colonne GeneClean (Kit GeneClean, Turbo MP-Biomedical) et une matrice particulière (special binding buffer guanidine thiocyanate). Les extraits d'ADN « propres » sont finalement quantifiés par un fluorimètre Qubit (Qubit@dsDNA HS, HighSensitive Assay Kit ; 0  $\text{pg}/\mu\text{L}$  to 100  $\text{ng}/\mu\text{L}$ ). Pour le Qubit, une solution de travail a été préparée en diluant 10  $\mu\text{L}$  de dsDNA BR Reagent dans 1990  $\mu\text{L}$  de Qubit Buffer. Deux standards ont été préparés pour la calibration de l'appareil en ajoutant 10  $\mu\text{L}$  de chaque solution de standard pour 190  $\mu\text{L}$  de solution de travail. Avant analyse, les extraits d'ADN ont été dilués au 200e dans la solution de travail (1  $\mu\text{L}$  de solution d'ADN dans 199  $\mu\text{L}$  de solution de travail). Les extraits d'ADN purifiés ont été stockés à  $-20^\circ\text{C}$ , jusqu'aux analyses dans un laboratoire de séquençage aux USA.

L'extraction des ADN a été réalisée pour chaque échantillon de sol ( $n=6$ ) en triplicat ( $n=3$ ). Le rendement de l'extraction a été déterminé en prenant la moyenne des valeurs obtenues accompagnée avec l'écart-type ( $\mu\text{g DNA g}^{-1}$  sol sec) (Tableau 2).



### 3.7. Analyse thermique

Nous avons préparé chaque type de WEOM extraite à partir du sol d'un site (n=6)

Les quantités de sols pour réaliser les extractions des WEOM ont été pesées selon les sols pour obtenir au minimum 1mg de C<sub>org</sub> dans les différents échantillons.

Les analyses thermiques ont été faites dans le laboratoire des sciences de la terre et de l'environnement à l'Université de Pennsylvanie à Philadelphie aux États-Unis. Elles ont été réalisées à l'aide d'un analyseur thermique simultané Netzsch STA 409PC Luxx équipé avec un porte échantillon de type S (Pt/PtRh) TG-DSC (Netzsch-Gerätebau GmbH). Les analyses des émissions de CO<sub>2</sub> ont été réalisées en couplant un analyseur infrarouge de gaz LI-840 CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O (IRGA, LI-COR Biosciences) à la sortie de l'analyseur thermogravimétrique. (Peltre et al., 2013)

Des indices ont été déterminés (Tableau 3) : la température à partir de laquelle la moitié du CO<sub>2</sub> est émis (CO<sub>2</sub>-T50) et la densité énergétique des WEOM. Ce dernier indice (en mJ mg<sup>-1</sup> C) a été déterminé en intégrant le flux de chaleur du DSC (en mW) sur la région exotherme de 200 à 615 °C et a été normalisé par la masse de C présent dans l'échantillon.

### 3.8. Statistiques

La collecte et la préparation des données ont été réalisées sur le logiciel Excel (Version 14.0.4734.1000– ©2010 Microsoft Corporation). Concernant les pré-traitements et les analyses statistiques, nous nous sommes servis du logiciel RStudio (Version 0.99.491 – © 2009-2015 RStudio,Inc). L'alignement des pics de masses issus de l'analyse par spectrométrie de masse a été réalisé en utilisant le package Mass. Les ACP a été réalisées en utilisant le package FactoMineR afin de réduire la dimensionalité des données. Pour tester les corrélations entre variables, nous avons déterminé le coefficient de corrélation R<sup>2</sup> et sa significativité en prenant un risque alpha de 0,05 en utilisant le package corrplot. Nous avons déterminé les relations entre les dynamiques de dissipation de la chaleur, la composition des MO apportées et la structure des communautés microbiennes par tests de Mantel sur les matrices de distances de chaque type de données avec le package vegan et ade4. Les graphiques ont été réalisées à l'aide des packages ggplot2 et reshape2. Nous avons utilisé un niveau de significativité statistique  $P < 0.05$  lors de la réalisation d'ANOVA à 1 facteur suivi par un test de comparaison multiple Tukey HSD. Dans le cas de variable ne suivant pas la distribution d'une loi normale, nous avons au préalable des tests précédents transformés la variable. Pour cela nous avons utilisé le logiciel XLSTAT.

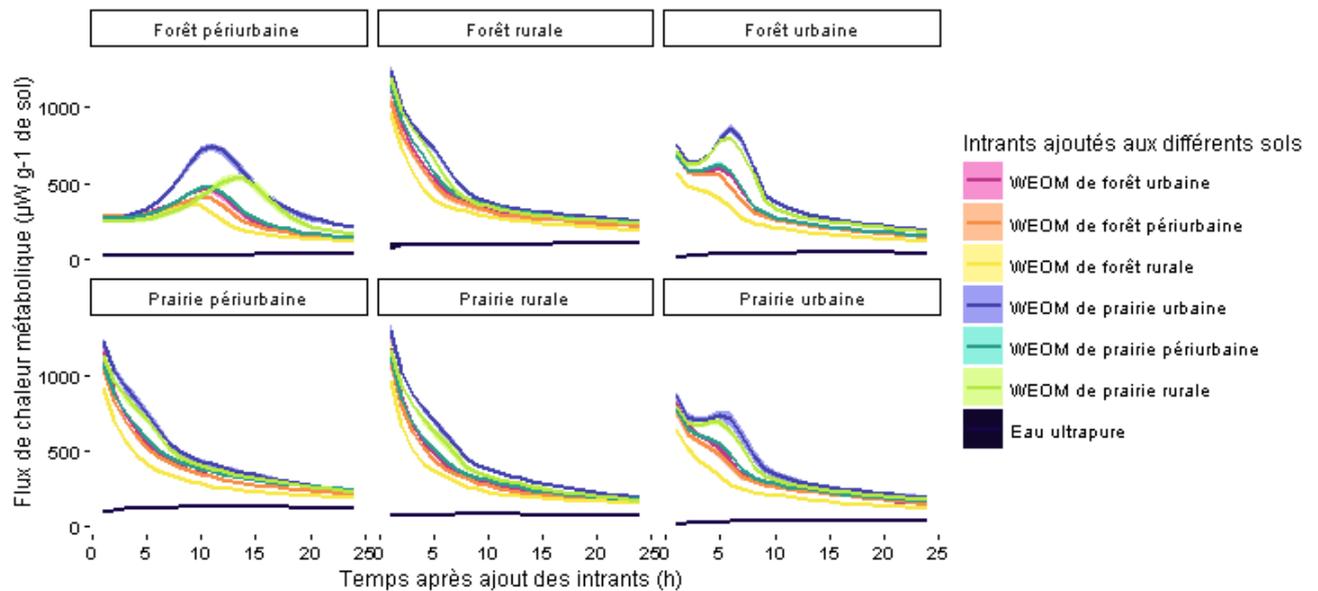


Figure 1 : Evolution des émissions de la chaleur issue du métabolisme des communautés microbiennes de 6 sols en fonction du temps écoulé après l'ajout de 7 intrants. Les données ont été collectées entre les temps  $t=1h$  et  $t=24h$ . Chaque couleur correspond à une MO. Le trait foncé représente la moyenne de 4 répliques et la bande plus claire correspond à  $\pm$  l'erreur standard.

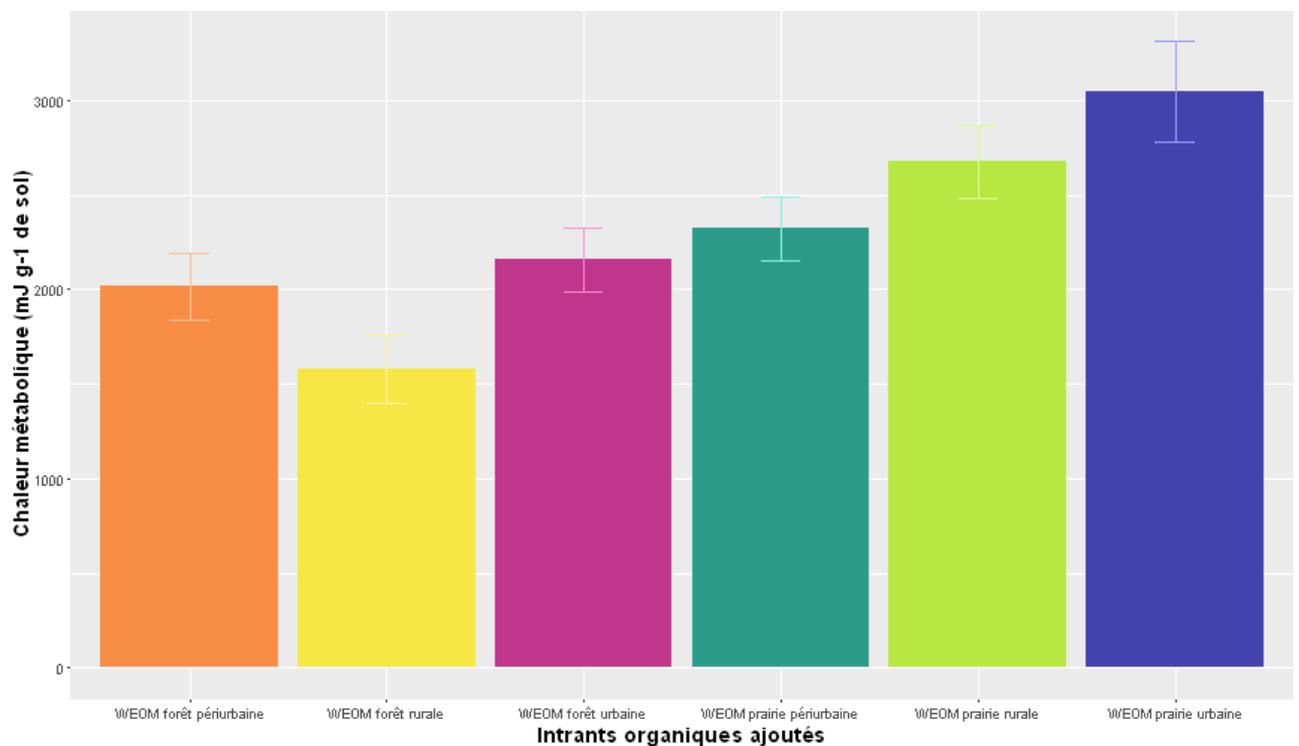


Figure 2 : Graphique des émissions totales de chaleur métabolique en fonction des types d'intrants organiques utilisés pour amender les sols ( $n=24 \pm 1*sd$ ).

## 4. Résultats

Nous observons six graphiques (Figure 1) correspondant chacun à un sol différent sur lesquels nous pouvons voir représenté les émissions de chaleurs métaboliques par gramme de sol selon le type d'intrant ajouté (des matières organiques en solution ou de l'eau) pendant 23h. Les formes générales des courbes observées sont pour l'une la conséquence de l'ajout de l'eau et pour les deux autres celle des matières organiques. Nous pouvons voir que les sols sont bien différenciés par la forme courbes et cela indépendamment de l'intrant organique ajouté. De plus la même hiérarchie entre les courbes se conserve à travers les sols.

Si l'on compare la chaleur métabolique totale émise pendant les 23h de mesures, cette ordre se perpétue quelque soit le sol (Figure 2). Nous pouvons par exemple observer que les émissions totales de chaleurs (en mJ g<sup>-1</sup> de sol) après ajout de solutions contenant les matières organiques issues de prairies urbaines ont les intensités les plus élevées. De manière opposée celles de bois rural ont les intensités les plus faibles.

Nous observons que l'émission de chaleur après ajout de l'eau est presque constante au cours du temps. Cela montre que la période de pré-incubation pendant quatre jours avant le début de l'expérience microcalorimétrique est suffisante pour stabiliser l'activité microbienne.

Les courbes de dissipation de chaleur métabolique dont l'évolution est strictement décroissante concernent les sols de prairie périurbaine, de forêt rurale et de prairie rurale. Contrairement à ces trois courbes, celles obtenues à partir des expériences où les intrants ont été ajoutés sur des sols de forêts périurbaines, de forêt urbaine et de prairie urbaine ont une évolution contrastée : stable ou décroissante dans un premier temps, elles croissent et finalement décroissent à nouveau au fur et à mesure que le temps de l'expérience s'écoule. Nous pouvons par ailleurs observer que le temps à partir duquel 50 % de la chaleur totale est émise diffère entre les sols. Cet indice, nommé la Q-T50, résume ces évolutions des émissions de chaleur issue du métabolisme des communautés en fonction du temps (Tableau 2). Les sols de bois rural, prairie rurale et prairie périurbaine sont caractérisés par une Q-T50 la plus faible alors que les sols de bois périurbain sont associés à une Q-T50 la plus élevée. Soit une différence d'environ 4 heures entre ces groupes de sol. Cela nous renseigne sur le temps de réponse des communautés microbiennes à un changement. Nous posons l'hypothèse que cela reflète la maturité de l'écosystème (Odum E. P., 1969) en considérant que plus cette Q-T50 est grande, plus la communauté microbienne est résistante face aux perturbations.

Bien que la même quantité de C<sub>org</sub> g<sup>-1</sup> de sol ait été ajoutée à chaque échantillon, la quantité d'énergie apportée au sol diffère. Cela est la conséquence de différences dans la quantité d'énergie libérée lors d'oxydation thermique des MO (mJ par g<sup>-1</sup> sol), appelée densité énergétique des MO. Ainsi, nous avons normalisé les flux de chaleur en divisant les quantités de chaleur métabolique par la quantité d'énergie apportée au sol sous forme de matières organiques (Tableau 3).

L'évolution de la fraction d'énergie totale ajoutée en fonction du temps est présentée dans la figure 3. Les tendances précédentes à propos des formes des courbes dépendant des sols s'observent à nouveau. Cependant la hiérarchie précédemment observée entre les courbes de MO est modifiée. Nous pouvons observer (Figure 4) deux groupes significativement différents en prenant un risque d'erreur alpha de 0,05 : celui composé des MO de bois urbain

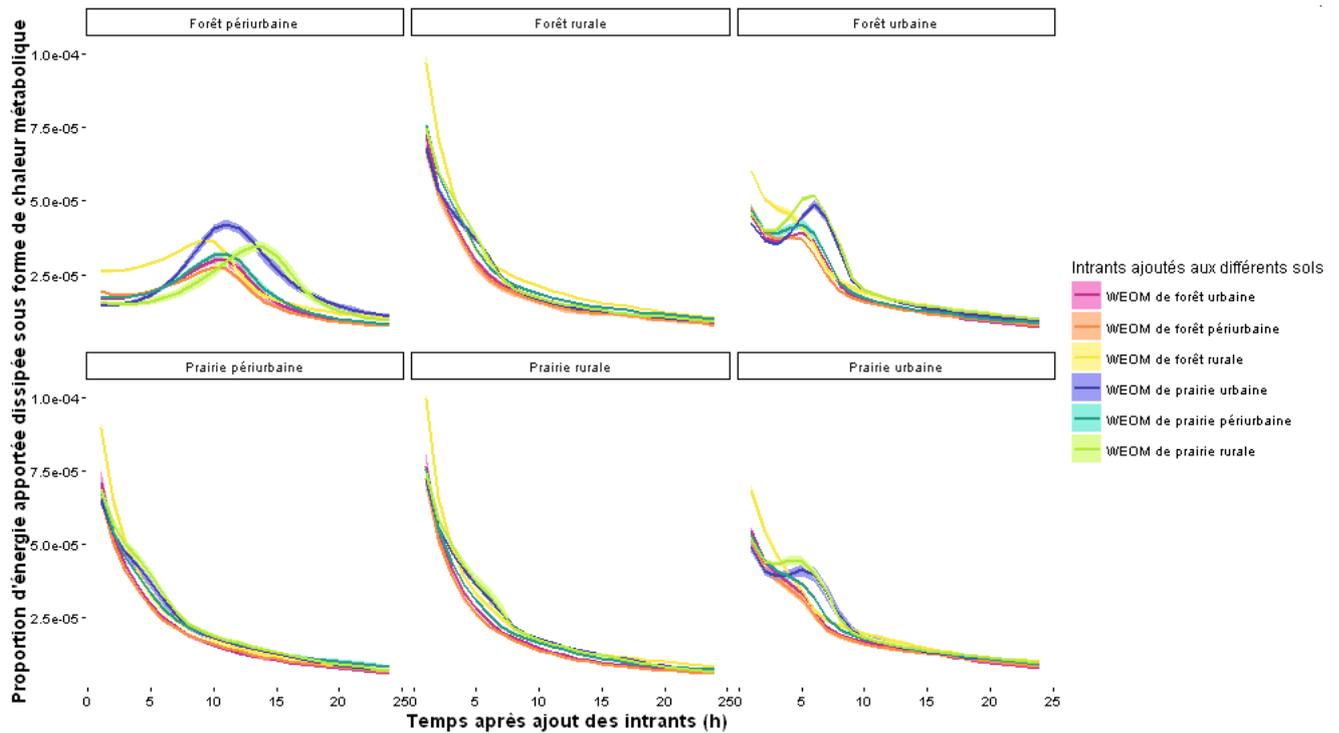


Figure 3 : Évolution de la proportion d'énergie potentiellement disponible pour les communautés microbiennes dissipée sous forme de chaleur issue de leur métabolisme au sein de 6 sols en fonction du temps écoulé après l'ajout de 6 intrants. Les données ont été collectées entre les temps  $t=1h$  et  $t=24h$ . Chaque couleur correspond à une MO. Le trait foncé représente la moyenne de 4 répliquas et la bande plus claire correspond à  $\pm$  l'erreur standard.

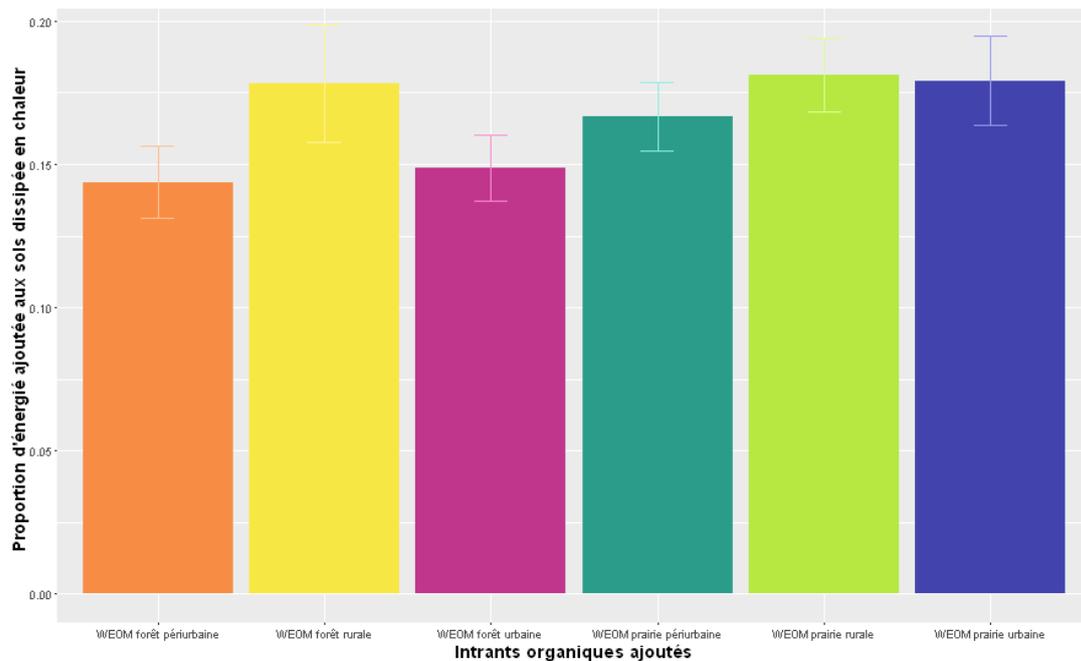


Figure 4 : Graphique de la proportion d'énergie apportée et potentiellement disponible pour les communautés microbiennes dissipée sous forme de chaleur métabolique en fonction des différents types d'intrants organiques utilisés pour amender les sols après leur ajout de 1h à 24h ( $n=24 \pm 1*sd$ ).

et de bois périurbain avec les valeurs les plus faibles, et celui des MO de bois rural, de prairie rurale, de prairie périurbaine et de prairie urbaine avec les valeurs de l'énergie totale ajoutée dissipées sous forme de chaleur les plus fortes (Tableau 3).

Etant donné que la forme des courbes métaboliques dépend du sol et non des matières organiques apportées, nous faisons l'hypothèse que les communautés microbiennes présentes dans les sols sont responsables de la dynamique de la dissipation.

Pour tester cette hypothèse, nous avons déterminé si les différentes dynamiques de dissipation étaient dues à des différences de biomasse microbienne en comparant le nombre de copies d'ARN ribosomal 16S et 18S issues d'une expérience de qPCR réalisée par un partenaire. Ces valeurs sont en effet respectivement des estimations des biomasses bactériennes et fongiques présentes dans nos échantillons de sols (Fierer et al., 2005). L'effet forme de la courbe n'est expliqué ni par la quantité de biomasse bactérienne ( $P = 0,74$ ), ni par celle fongique ( $P = 0,58$ ) et ni par le rapport des pourcentages des quantités d'ARN 18S sur celles d'ARN 16S ( $P = 0,11$ ).

La structure des communautés présentes dans les 6 sols étaient différentes (Annexe 1). Chaque axe a été construit en réalisant une ACP à partir des données de séquençage des extraits d'ADN de chaque sol. Nous observons que les 5 premiers axes expliquent chacun entre 6 et 12 % de la variabilité totale concernant les quantités relatives d'OTU entre les différents sols (chaque OTU ou unité taxonomique opérationnelle est associée à une espèce). Nous observons différentes corrélations entre le type de sol et la composition des communautés microbiennes entre : l'axe de dimension 1 et le sol de bois périurbain ( $R^2 = 0,91$  et  $P < 0,0001$ ), l'axe de dimension 2 et les sols de prairie périurbaine et de bois urbain ( $R^2 = 0,71$  et  $P = 0,008$ ), l'axe de dimension 3 et le sol de prairie urbaine ( $R^2 = 0,95$  et  $P < 0,0001$ ), l'axe de dimension 4 et le sol de bois rural et le sol de bois urbain ( $R^2=0,94$  et  $P < 0,0001$ ), et l'axe de dimension 5 et le sol de prairie rurale ( $R^2 = 0,94$  et  $P < 0,0001$ ).

La structure des communautés microbiennes pourrait influencer la dynamique de dissipation de l'énergie. Afin de comprendre la participation de la composition des communautés microbiennes dans la part de l'énergie apportée dissiper sous forme de la chaleur métabolique, nous avons testé la relation entre les dynamiques des parts d'énergie apportée dissipée sous forme de chaleur métabolique pour chaque MO ajoutée selon les différents sols et les profils de composition microbienne issus des données de séquençage des ADN extraits des différents sols. Les tests de Mantel n'ont trouvé que des similarités non significatives sauf pour les MO de bois périurbain (Mantel  $R = 0,88$  et  $P = 0,043$ ) et les MO de prairie urbaine (Mantel  $R = 0,86$  et  $P = 0,050$ ). Ce résultat nous renseigne sur le fait que l'apport de MO de bois périurbain et de prairie urbaine influence de manière significative quelques soit les différences de compositions des communautés microbiennes l'évolution temporelle de la part d'énergie apportée dissiper sous forme de chaleur après apport de MO dans les sols.

Afin de déterminer le rôle de la composition de la MO dans la dissipation de la chaleur métabolique, nous avons testé la relation entre les dynamiques de dissipation de la chaleur métabolique au sein de chaque sol selon les MO ajoutés et les profils de composition moléculaires issus des spectres des masses molaires de chaque matière organique. Les tests de Mantel n'ont pas trouvé de similarité significative. Cela veut donc dire que les variations de compositions différenciant les matières organiques n'expliquent pas de manière significative la dynamique de dissipation d'énergie après apport des MO dans les sols.

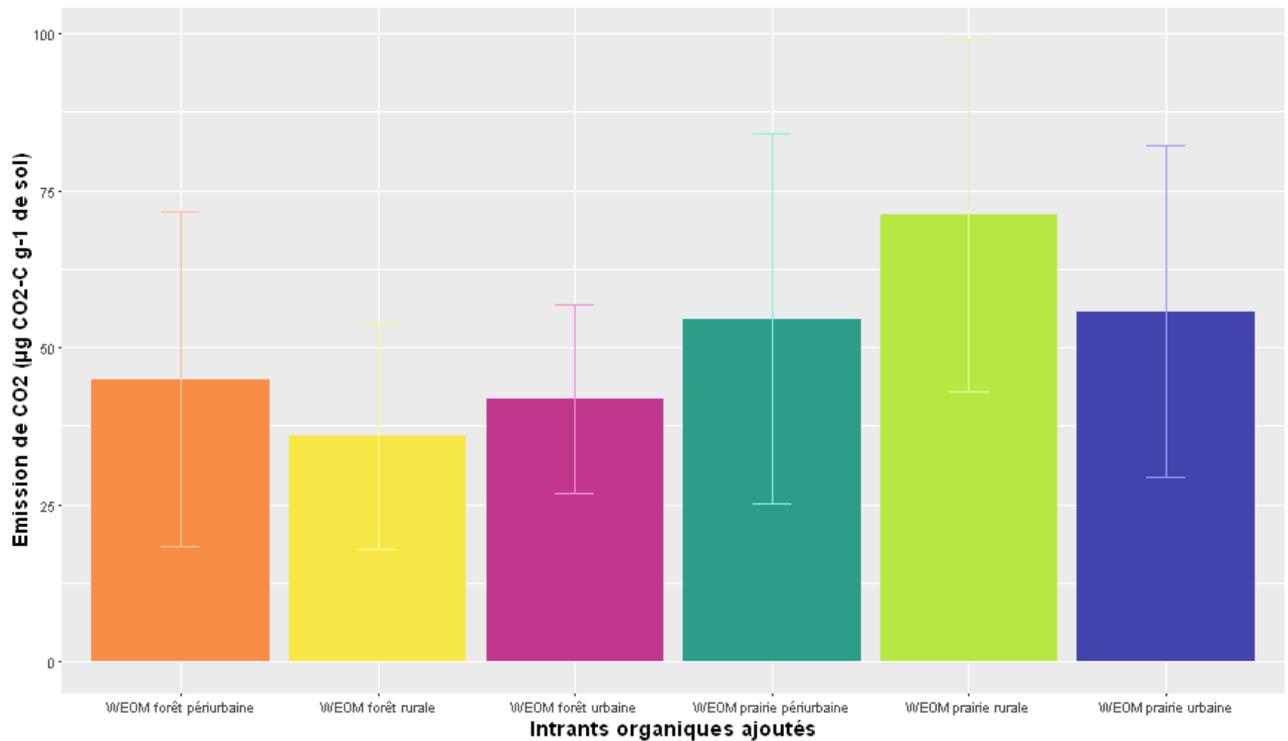


Figure 5 : Graphique des émissions totales de CO2 en fonction des différents types d'intrants organiques utilisés pour amender les sols après leur ajout de 1 h à 24 h ( $n=19 \pm 1*sd$ ).

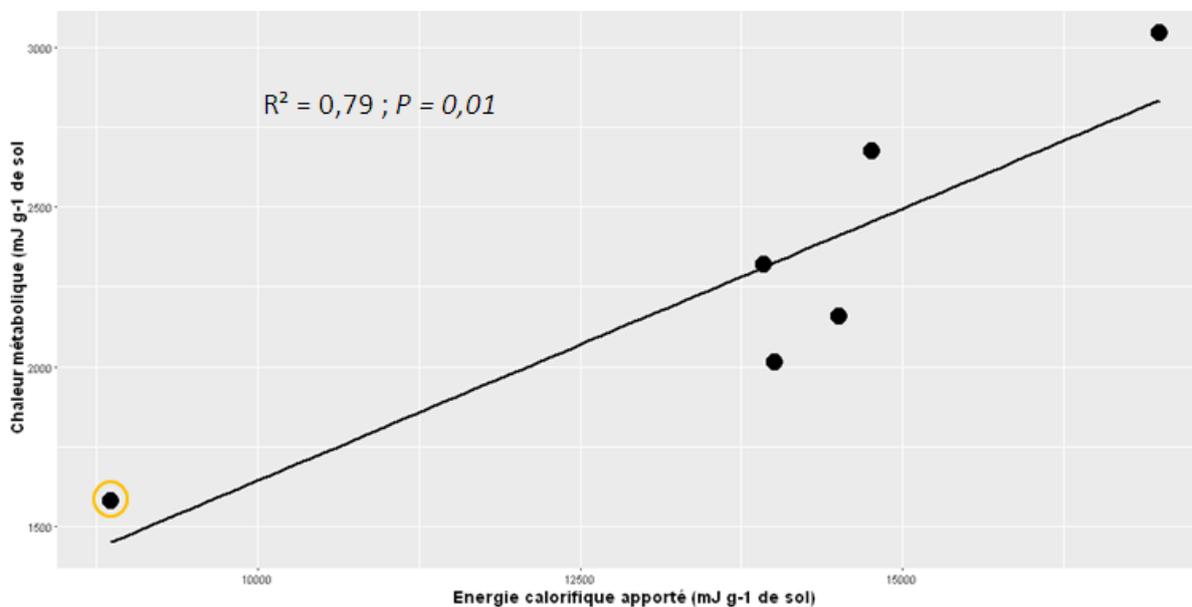


Figure 6 : Graphiques de la corrélation entre l'énergie calorifique apportée au sol sous forme de MO et la chaleur métabolique (5 données sont issues des données de bomb calorimetry et comme 1 valeur était manquante, nous avons rajouté 1 valeur du même échantillon issu des données thermogravimétriques (cercle orange)) Le coefficient de détermination ( $R^2$ ) et la valeur  $P$  du test de significativité de corrélation sont également indiqués.

Nous pouvons observer (Annexe 2), les 6 spectres de masses. Les différences entre chaque spectre, résumées en réalisant une ACP à partir de ces données (Annexe 3), ne nous permettent pas de d'identifier un groupe de MO uniquement de forêts ou de prairie dont la composition est différentes des autres. Toutefois nous observons que les échantillons de MO issus de prairie urbaine, de prairie rurale et de bois rural ont une composition plus proche les unes des autres tant sur l'axe de dimension 1, 2 et 3 que les autres MO. En particulier, la MO de prairie périurbaine est à chaque fois sur ces 3 axes, la plus éloignée des autres MO. Nous pouvons comparer nos observations précédentes aux 6 spectres de masses précédents (Figure 7). Instinctivement nous voyons bien que le groupe constitué des MO de prairie urbaine, prairie rurale et bois rural ont des intensités relatives à chaque masse plus faible que les autres. Concernant le spectre de prairie périurbaine, nous pouvons observer à l'image des résultats de l'ACP, que certains pics ont une intensité relative beaucoup plus importante que celle que nous pouvons observer dans les autres spectres.

Afin d'identifier des variables explicatives pouvant expliquer la hiérarchie des courbes des MO, nous avons étudié les corrélations entre variables. Nous observons (Figure 6) que l'énergie potentiellement disponible est corrélée positivement avec le flux total de chaleur métabolique ( $R^2 = 0,79$  et  $P = 0,01$ ). De plus, nous observons (Figure 7) une relation positive entre la quantité d'azote apportée dans 0,3 mg de MO et la composition de cette dernière ( $R^2 = 0,67$  et  $P = 0,04$ ). En effet, le troisième axe de l'ACP réalisée à partir des données de spectrométrie de masse explique 15% de la variabilité totale concernant les intensités relatives des pics de masse molaire entre les différentes matières organiques. Une dernière corrélation (Figure 10) entre la part de l'énergie apporté dissipé sous forme de chaleur et le troisième axe de l'ACP a été identifiée ( $R^2 = 0,83$  et  $P = 0,01$ )

Nous observons qu'il n'y a pas de corrélation significative entre la part de l'énergie potentiellement disponible pour les communautés microbiennes qui a été dissipée sous forme de chaleur métabolique et la température à partir de laquelle 50% du  $CO_2$  total est émis ( $R^2 = 0,29$  et  $P = 0,67$ ).

La proportion de l'énergie apportée aux communautés microbiennes qui a été dissipée sous forme de chaleur et la proportion du carbone organique apportée qui a été minéralisée sous forme de  $CO_2$  ne sont également pas corrélées de manière significative ( $R^2 = 0,09$  et  $P = 0,55$ )

Il n'y a pas non plus de corrélation significative entre la proportion du carbone organique qui a été minéralisée sous forme de  $CO_2$  et l'énergie potentiellement disponible pour les communautés microbiennes ( $R^2 = 0,36$  et  $P = 0,20$ ).

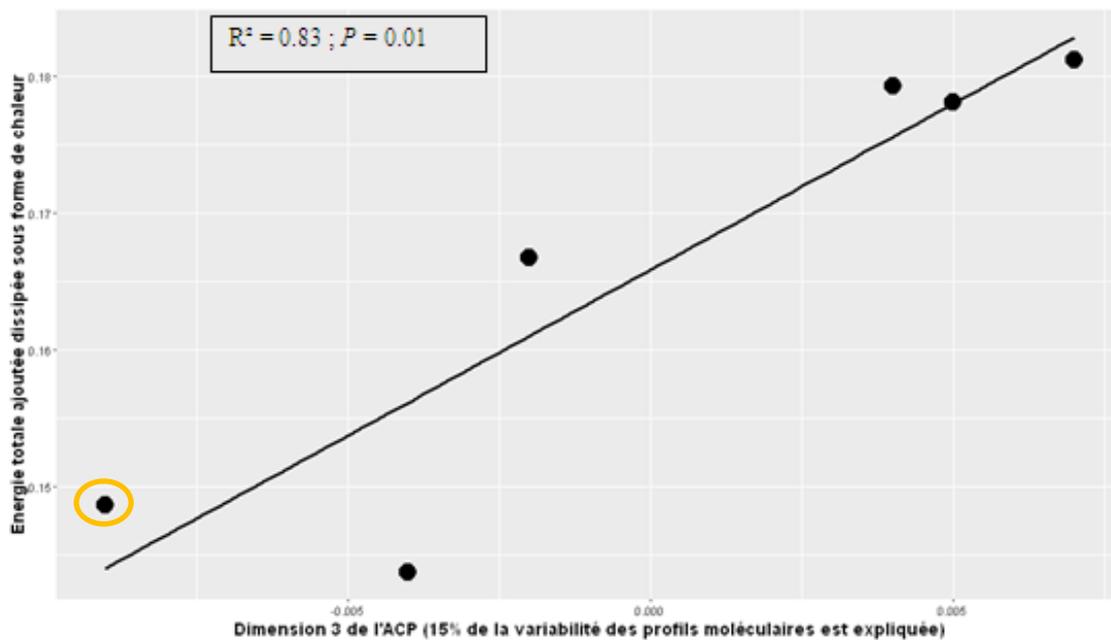
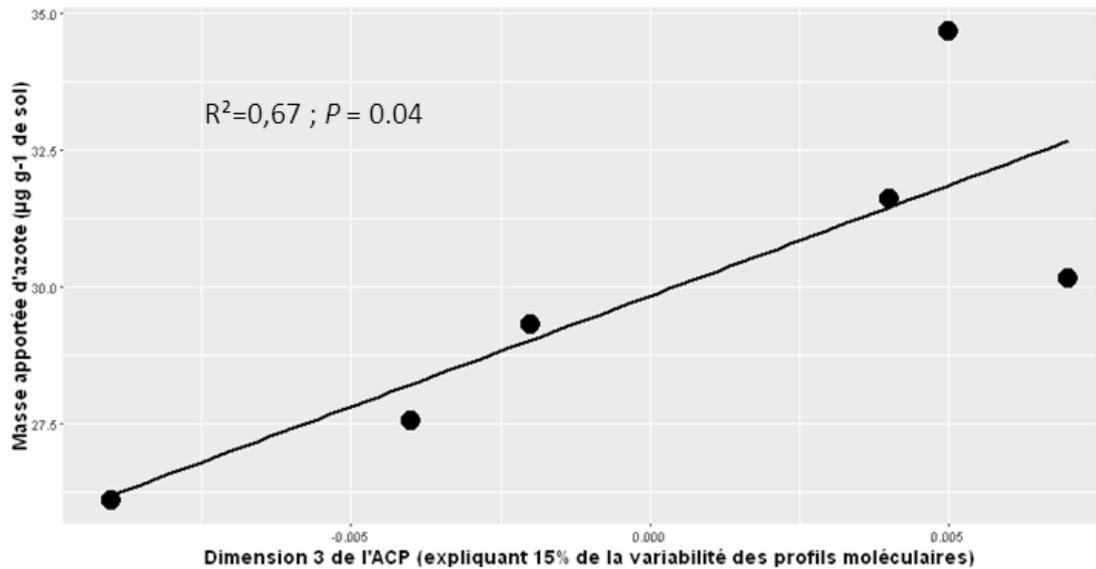


Figure 7 : Graphiques montrant 2 corrélations entre la masse apportée d'azote sous forme de MO (1<sup>ère</sup> courbe, (n=6)), la proportion d'énergie ajoutée dissipée sous forme de chaleur (2<sup>ème</sup> courbe, (5 valeurs ont été calculée à partir des données de bomb calorimetry et comme 1 valeur était manquante, nous avons rajouté 1 donnée du même échantillon manquant issue des résultats thermogravimétriques (cercle orange)) avec la dimension 3 de l'ACP réalisée à partir des données de spectrométrie de masse. Le coefficient de détermination ( $R^2$ ) et la valeur  $P$  du test de significativité de corrélation sont également indiqués.

## 4. Discussion

Nous n'observons pas de corrélation entre la CO<sub>2</sub>-T50 (un indice approchant l'énergie nécessaire à fournir pour activer une matière organique) et la densité énergétique (un indice approchant l'énergie libérée une fois la matière organique activée). Nos résultats suggèrent donc qu'une matière organique peut par exemple nécessiter un fort investissement pour ne libérer qu'une faible quantité d'énergie ou non.

Cette absence de corrélation semble toutefois ne pas aller dans la même direction qu'Harvey et al. (2016). Ces auteurs utilisant l'indice R50 (comme nous l'avons vu précédemment, qui est corrélé à la TG-T50 et à la CO<sub>2</sub>-T50) ont pu identifier une corrélation exponentielle décroissante entre cette énergie contenue dans les MO et la barrière à franchir pour la collecter. D'après eux, plus une molécule contient d'insaturations, plus l'énergie nécessaire à la rupture de ces liaisons est importante, mais l'énergie libérée sous forme de chaleur par liaisons rompues semble plus faible. Harvey et al. (2012) nomme ce dernier argument l'hypothèse de l'approche énergétique : la quantité d'énergie nécessaire pour oxyder ou volatiliser une quantité donnée de matière organique dépendra de l'environnement des liaisons des atomes de carbones.

Nos résultats se rapprocheraient plus de ceux de Rovira et al. (2008) qui nous expliquent que notre observation précédente est possible dans la réalité. Ces auteurs définissent en effet la qualité d'une MO comme étant non seulement une résultante de la composition chimique mais également de la structure physique. Plante et al., 2013 montre en effet que certains débris de plante du fait de leur structure peuvent avoir une stabilité thermique relativement élevée tout en étant minéralisé rapidement, du fait de leur densité énergétique élevée, autrement dit le rendement énergétique des matières organiques (soit sa qualité) l'emporte sur sa stabilité (récalcitrance).

D'autres parts, ces mêmes auteurs définissent la qualité des MO en quatre catégories selon si l'intensité d'énergie est abondante ou non et selon si le coût d'accès à cette énergie est plus ou moins élevé. Ces deux variables permettant cette classification ont été approchées par différents indices.

Il a été montré que l'énergie nécessaire pour atteindre l'état de transition lors de l'oxydation de la demi-équation de la MO peut être approchée par la CO<sub>2</sub>-T50 et la TG-T50 (Peltre et al., 2013), la R50, l'Ea pour les réactions chimiques déterminées par analyse thermique (Harvey et al., 2012), l'Ea pour les réactions catalysées par des enzymes par mesure de CO<sub>2</sub> à différentes températures (Leifeld et Von Lützow, 2013) ou par des mesures des flux de chaleurs à différentes températures par microcalorimétrie (Barros et al., 2016) et le  $\Delta G^{\circ}\text{Cox}$  déterminé par spectrométrie de masse en calculant la NOSC (LaRowe et Van Cappellen, 2011).

La quantité d'énergie libérée lors de la réaction d'oxydoréduction entre la MO et un accepteur final d'électron a été approchée, dans le cas où l'accepteur final d'électron est de l'O<sub>2</sub>, par la densité énergétique mesurée par DSC (Plante et al., 2011) et par  $\Delta E$  mesurée par bomb calorimetry (Harvey et al., 2016).



Harvey et al. (2016), ont réussi à unifier ces notions de coût et bénéfice énergétiques des MO en déterminant un ratio qui se nomme le ROI (pour « return on investment » en anglais, soit retour sur investissement en français). Ces auteurs la déterminent en divisant l'énergie d'activation pour oxyder thermiquement une matière organique ( $E_a$ ) par l'énergie libérée lors de sa combustion ( $\Delta E$ ). Ces auteurs montrent que cet indice est relié à la minéralisation des MO. Les microorganismes semblent avoir d'après ces mêmes auteurs une préférence à dégrader les MO ayant un potentiel retour sur l'investissement énergétique supérieur.

Les valeurs de CO<sub>2</sub>-T50 pour nos échantillons varient sur une gamme de température allant de 390 à 457 °C. Nous pouvons les comparer aux valeurs de R50 de Harvey et al. (2012). Ce dernier indice est construit en divisant la TG-T50 de l'échantillon par la TG-50 d'un échantillon de référence, le graphite (qui a une TG-T50 très élevée). La TG-T50 représente la température où 50 % de la masse de l'échantillon est perdue et est mesurée par thermogravimétrie. La TG-T50 est très corrélée à la CO<sub>2</sub>-T50 (Peltre et al., 2013). La TG-T50 des échantillons analysés par Harvey et al. (2012) varient de 336 °C à 886 °C (pour le graphite). Si l'on considère que la température à partir de laquelle ces indices sont déterminés renseigne sur l'énergie à apporter pour oxyder 50 % d'un échantillon, alors plus les indices ont des valeurs élevées, plus l'énergie apportée est grande pour oxyder 50 % de l'échantillon. Si l'on positionne nos valeurs d'indices de CO<sub>2</sub>-T50 sur l'échelle déterminée à partir des indices de TG-T50, nous remarquons qu'elles sont dans la partie basse.

Ce dernier constat est surprenant si l'on considère que nos solutions de MO ont été obtenues selon certaines procédures qui a priori auraient laissé penser à ce que la CO<sub>2</sub>-T50 des MO soient plus élevée. En effet, notre méthodologie d'extraction s'est inspirée de celle de Nkhili et al., (2012) Ces derniers ont montré que leurs WEOM extraites à 60°C pendant 30min contiendraient une proportion de 65 % de composés hydrophiles et 35 % hydrophobes. Comparativement aux autres extractions utilisant des paramètres températures et temps différents, les solutions de WEOM analysées seraient d'après ces mêmes auteurs enrichies en structures aromatiques avec des niveaux élevés de substitution, des groupements fonctionnels polaires contenant de l'oxygène (hydroxyle, carbonyle, carboxyle, ester) et ayant un potentiel facilité de transfert de leurs électrons. Ces extraits contiendraient plus de composés aromatiques et/ou hétérocycliques et moins de composés rapidement dégradables comme des sucres, des acides aminés et des acides carboxyliques. Les composés extraits seraient comparativement aux autres modalités d'extractions testées par ces mêmes auteurs plus humifiés. Les dégradations des molécules seraient limitées.

Cela voudrait donc dire que même en ayant des solutions de MO avec des caractéristiques comme précédemment présentées (en particulier plus humifiées, contenant plus de composés avec des insaturations) le coût d'accès à leur contenu énergétique est comparativement faible par rapport à celui de certains biochars (Harvey et al., 2012) ou par rapport à celui de MO liées à des argiles ou à des oxydes métalliques pouvant demander une dépense énergétique supérieure pour être oxydé (Kahle et al., 2003)

De plus, l'absence de similarité entre les profils moléculaires de la MO et les profils métaboliques va dans ce sens de LaRowe et Van Cappellen (2011). Ils ont montré que dans les conditions redox où l'accepteur final d'électron le dioxygène est présent en quantité non limitante, bien que la plupart des MO ne se dégradent pas de manière spontanée, le rendement énergétique était tel que le facteur limitant thermodynamique est très faible. Or dans notre cas, s'ajoute à la forte valeur d'énergie libérée du  $\Delta G_{Cred}$  (la variation d'énergie libre de Gibbs de la réduction de la demi-réaction entre l'O<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O (Willems et al., 2013)) une faible valeur du



$\Delta G_{Cox}$  (approché par l'indice de CO<sub>2</sub>-T50). Ainsi, notre hypothèse serait de dire que les différences de composition moléculaire entre les solutions de MO n'expliqueraient pas les différences observées d'émissions de chaleur métabolique car les différences de rendement énergétique ou encore potentiel retour sur investissement ne seraient pas assez différents entre les échantillons pour influencer le comportement des communautés microbiennes hétérotrophes aérobiques.

Nous avons montré que malgré une extraction standardisée, le facteur sol est à l'origine de différences dans les compositions moléculaires de nos solutions de MO (Annexe 2 et Annexe 3), mais également de différences concernant le coût et le bénéfice énergétique associés à leur oxydation thermique (Tableau 3). Toutefois, ces différences ne semblent pas assez grandes pour expliquer des changements de la dynamique du métabolisme des communautés microbiennes.

En revanche, nous observons la présence d'une corrélation entre les émissions de chaleur métabolique et l'énergie ajoutée au sol sous forme de MO. Cela montre que plus d'énergie est ajoutée au système plus de chaleur est émise, donc que plus l'activité des communautés microbiennes est élevée. Rovira et al. (2008) ont quant à eux identifié un lien entre activités des communautés microbiennes et l'énergie apportée au sol, mais approchée par les émissions de CO<sub>2</sub> et non de chaleur métabolique.

Nous n'observons toutefois pas de lien entre l'énergie ajoutée au sol et le CO<sub>2</sub> émis. Cela suggère que, bien que le CO<sub>2</sub> soit généralement utilisé comme indicateur de l'activité microbienne des sols (Leifeld et Lützow, 2013), les émissions de CO<sub>2</sub> ne rendent pas compte de la totalité de l'activité microbienne et que la microcalorimétrie pourrait être un meilleur indicateur de cette activité, comme l'a suggéré Herrmann et al. (2014).

Dans notre cas, nous observons (Figure 5) que la variabilité issue des mesures de CO<sub>2</sub> est beaucoup plus élevée que celle de la chaleur métabolique. Ce dernier point confirme le même constat de Barros et al. (2016). Les raisons pourraient être de plusieurs types : la méthode d'échantillonnage est en cours de développement, des erreurs ont pu avoir lieu lors de la normalisation de la quantité de CO<sub>2</sub> émise de 1 h à 24 h, dans les cas où notre hypothèse de linéarité d'émission de CO<sub>2</sub> de 0 h à 1 h et de 24 h à 25 h après ajout de la MO au sol n'est pas valable. Comme nous l'avons vu plus précédemment, le facteur de récalcitrance n'étant pas corrélé avec ces mêmes émissions de chaleur, cela montre que concernant le compartiment des MO que nous avons analysés, les WEOM, cet indice semble peu pertinent.

La présence de similarités significatives entre les profils métaboliques et les profils de composition des communautés microbiennes des sols pour les MO des sols de forêt périurbaine et de prairie urbaine est un résultat qui est en accord avec celui de Herrmann, et al. (2014). Les données de ces derniers auteurs montrent en effet des liens significatifs entre les profils des communautés microbiennes et les processus métaboliques ayant lieu dans leurs différents sols. Ainsi, d'après ces mêmes auteurs les processus pris en compte par la mesure de la dynamique des émissions de chaleur métabolique sont reliés aux différences de composition microbienne. Bölscher et al. (2016) identifient un lien entre la composition des communautés microbiennes des sols et leur faculté de dissiper sous forme de chaleur une proportion plus ou moins importante de l'énergie à leur disposition. Ainsi les apports des intrants organiques de forêt périurbain et de prairie urbaine modifie la dynamique de la part de l'énergie apportée dissipé sous forme de chaleur métabolique quelques soit les communautés microbiennes. C'est une adaptation métabolique en fonction de la qualité des substrats.



## **5. Conclusion**

Un phénomène fondamental du fonctionnement du sol est le transfert d'énergie au sein de l'écosystème, sous des formes à l'accessibilité et à la densité dépendantes en particulier de la latitude, du pH et de la végétation du sol (Roth et al., 2013).

Le fonctionnement du sol est soumis à des risques naturels et anthropiques. L'évaluation de sa qualité est un processus, au sein duquel une étape de développement d'indicateurs est présente. En particulier, cette étude a consisté en quelque sorte en une forme modeste d'enquête selon une approche énergétique sur l'origine et les causes des différences de réponses métaboliques des communautés microbiennes à l'apport d'intrants organiques.

La microcalorimétrie s'est montré être une technique pertinente pour mesurer les variations de l'activité microbienne en mesurant le flux de chaleur.

Les différences dans la dissipation totale de chaleur métabolique entre MO semblent être expliquées en partie par la densité énergétique mesurée par bombe calorimétrie et DSC, apportant une certaine plu-value à ces techniques thermiques.

La dynamique de la part de l'énergie apportée dissipée sous forme de chaleur est expliquée pour deux sols par des différences dans les profils de compositions microbiennes, mais ne l'est pas par des différences entre les profils moléculaires des MO. Nous avons posé l'hypothèse que les communautés microbiennes de ces deux sols caractérisées par un Q-T50 (le temps où 50% de la chaleur métabolique totale est dissipée) élevé (Tableau 2) sont plus résistantes vis-à-vis d'une perturbation du milieu, du fait de leur comparativement plus faible activité sur les premières heures après l'arrivée du changement.

Nous avons montré que le type d'intrant organique influençait de manière significative de quelques pourcentages la part de l'énergie émise qui a été dissipée sous forme de chaleur métabolique sur 23 h. De plus, l'efficacité thermodynamique, un indicateur du métabolisme des communautés microbiennes, défini par Harris et al. (2012) comme l'opposée de la part de l'énergie ajoutée dissipée sous forme de chaleur est influencée par des différences dans les profils moléculaires des MO mesurées par spectrométrie de masse.

Certaines causes de la variation du métabolisme des communautés microbiennes ont ainsi pu être mises en évidence. Toutefois, peut-être que certains indices ont manqué pour mener l'enquête à terme. Nous pensons en particulier à la CO<sub>2</sub>-T50 et au  $\Delta G^{\circ}\text{Cox}$ . Mériterait-elle d'être approfondie ? Pourquoi pas par une étude intégrant un plus grand nombre de répliquas, des formes de MO issues d'autres compartiments, associées ou non à différentes argiles ou oxydes métalliques et une analyse approfondie des profils énergétiques, des thermogrammes, une modélisation des profils métaboliques s'appuyant sur des données microbiologiques complémentaires.



## **6. Bibliographie**

Astasov-Frauenhoffer M., Braissant O., Hauser-Gerspach I., Daniels A. U., Wirz D., & Waltimo T. (2011). Quantification of vital adherent *Streptococcus sanguinis* cells on protein-coated titanium after disinfectant treatment. *J Mater Sci. Mater Med*, 22, 2045-2051.

Azarbad H., Niklinska M., Laskowki R., Van Straalen N. M., Van Gestel C. A. M., Zhou J., Röling W. F. M. (2015). Microbial community composition and functions are resilient to metal pollution along two forest soil gradients. *FEMS Microbiology Ecology*, 91.

Barros N., Hansen L. D., Pineiro V., Cruzado C. P., Villanueva M., Proupin J., & Rodriguez-Anon J. A. (2016). Factors influencing the calorespirometric ratios of soil microbial metabolism. *Soil Biology & Biochemistry*, 92, 221-229.

Barros N., Hansen L. D., Pineiro V., & Vikegard P. (2016). Calorimetry measures the response of soil organic matter biodegradation to increasing temperature. *J Therm Anal Calorim*, 123, 2397-2403.

Bölscher T., Wadsö L., Börjesson G., & Herrmann A. M. (2016). Differences in substrate use efficiency: impacts of microbial community composition, land use management, and substrate complexity. *Biology and Fertility of Soils*, 52, 547-559.

Braissant O., Bachmann A., & Bonkat G. (2015). Microcalorimetric assays for measuring cell growth and metabolic activity: Methodology and applications. *Methods*, 76, 27-34.

Braissant O., Bonkat G., Wirz D., & Bachmann A. (2013). Microbial growth and isothermal microcalorimetry: Growth models and their application to microcalorimetric data. *Thermochimica Acta*, 555, 64-71.

Braissant O., Wirz D., Göpfert B., & Daniels A. U. (2010). Use of isothermal microcalorimetry to monitor microbial activities. *FEMS Microbio Lett*, 303, 1-8.

Burgin A. J., Yang W. H., Hamilton S. K., & Silver W. L. (2011). Beyond carbon and nitrogen: how the microbial energy economy couples elemental cycles in diverse ecosystems. *Front Ecol Environ*, 9(1), 44-52.

Cao D., Huang H., Hu M., Cui L., Geng F., Rao Z., ... Kang Y. (2015). Comprehensive characterization of natural organic matter by MALDI-and ESI-Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 866, 48-58.

Fierer N., Jackson J. A., Vigalys R., & Jackson R.B. (2005). Assessment of Soil Microbial Community Structure by Use of Taxon-Specific Quantitative PCR Assays. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(7), 4117-4120.

Geyer K. M., Kyker-Snowman E., Stuart Grandy A. S., & Frey S. D. (2016). Microbial carbon use efficiency: accounting for population, community, and ecosystem-scale controls over the fate of metabolized organic matter. *Biogeochemistry*, 127, 173-188.



- Harakat D. (2011). Etudes mécanistiques par ESI-MS de réactions palladocatalysées (Thèse de doctorat). Université de Reims Champagne-Ardenne.
- Harris D., Horwath W. R., & Van Kessel C. (2001). Acid fumigation of soils to remove carbonates prior to total organic carbon or carbon-13 isotopic analysis. *Soil Sci. Soc. Am.*, (65), 1853-1856.
- Harris J. A., Ritz K., Coucheney E., Grice S. M., Lerch T. Z., Pawlett M., & Herrmann A. M. (2012). The thermodynamic efficiency of soil microbial communities subject to long-term stress is lower than those under conventional input regimes. *Soil Biology & Biochemistry*, 47, 149-157.
- Harvey O. R., Kuo L.-J., Zimmerman A. R., Louchouart P., Amonette J. E., & Herbert B. E. (2012). An Index-Based Approach to Assessing Recalcitrance and Soil Carbon Sequestration Potential of Engineered Black Carbons (Biochars). *Environmental Science & Technology*, 46, 1415-1421.
- Harvey O. R., Myers-Pigg A. N., Kuo L.-J., Pal Singh B., Kuehn K. A., & Louchouart P. (2016). Discrimination in Degradability of Soil Pyrogenic Organic Matter Follows a Return-On-Energy-Investment Principle. *Environmental Science & Technology*, 50, 8578-8585.
- Herrmann A. M., & Bölscher T. (2015). Simultaneous screening of microbial energetics and CO<sub>2</sub> respiration in soil samples from different ecosystems. *Soil Biology & Biochemistry*, 83, 88-92.
- Herrmann A. M., Coucheney E., & Nunan N. (2014). Isothermal Microcalorimetry Provides New Insight into Terrestrial Carbon Cycling. *Environmental Science & Technology*, 48, 4344-4352.
- Herzprung P., Hertkorn N., Von Tümpling W., Harir M., Friese K., & Schmitt-Kopplin P. (2014). Understanding molecular formula assignment of Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry data of natural organic matter from a chemical point of view. *Anal Bioanal Chem.*
- Jin Q., & Bethke C. M. (2005). Predicting the rate of microbial respiration in geochemical environments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 69(5), 1133-1143.
- Kahle M., Markus K., & Jahn R. (2004). Retention of dissolved organic matter by phyllosilicate and soil clay fractions in relation to mineral properties. *Organic Geochemistry*, 35, 269-276.
- Karlen D.L., Mausbach M.J., Doran J.W., Cline R.G., Harris R.G., & Schuman G.E. (1997). Soil Quality: A concept, Definition, and Framework for Evaluation (A Guest Editorial). *Soil Sci. AM. J.*, 61, 4-10.
- Koch B. P., Dittmar T., Witt M., & Kattner G. (2007). Fundamentals of Molecular Formula Assignment to Ultrahigh Resolution Mass Data of Natural Organic Matter. *Anal. Chem.*, 79, 1758-1763.
- Körschens. (2006). The importance of long-term field experiments for soil science and environmental research - a review. *Plant Soil Environ.*, 52, 1-8.



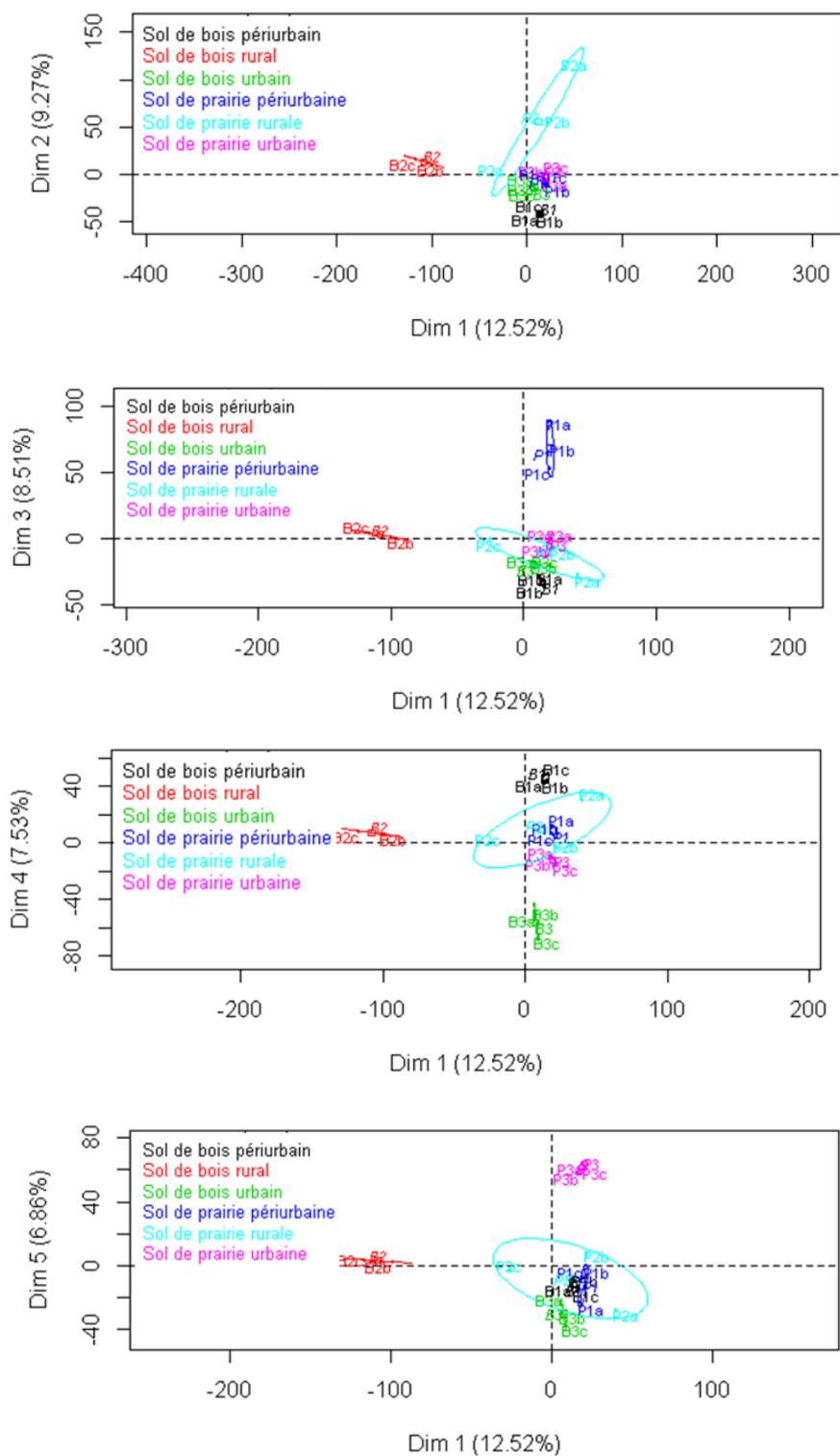
- Kujawinski E. B., & Behn M. D. (2006). Automated Analysis of Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectra of Natural Organic Matter. *Anal. Chem.*, 78, 4363-4373.
- LaRowe D. E., Dale A. W., Amend J. P., & Van Cappellen P. (2012). Thermodynamic limitations on microbially catalysed reaction rates. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 90, 96-109.
- LaRowe D. E., & Van Cappellen P. (2011). Degradation of natural organic matter: A thermodynamic analysis. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 75, 2030-2042.
- Leifeld J., & Lützw. (2014). Chemical and microbial activation energies of soil organic matter decomposition. *Biol Fertil Soils*, 50, 147-153.
- Li M.-t., ZHAO L.-p., & ZHANG J.-j. (2013). Effect of Temperature, pH and Salt on Fluorescent Quality of Water Extractable organic Matter in Black Soil. *Journal of Integrative Agriculture*, 12(7), 1251-1257.
- MacIntyre C., & McRae C. (2005). Proposed guidelines for sample preparation and ESI-MS analysis of humic substances to avoid self-esterification. *Organic geochemistry*, 36, 543-553.
- Maskow T., & Harms H. (2006). Real Time Insights into Bioprocesses Using Calorimetry: State of the Art and Potential. *Eng. Life Sci.*, 6(3), 266-277.
- Maskow T., & Paufler S. (2015). What does calorimetry and thermodynamics of living cells tell us? *Methods*, 76, 3-10.
- Nkhili E., Guyot G., Vassal N., & Richard C. (2012). Extractability of water-soluble soil organic matter as monitored by spectroscopic and chromatographic analyses. *Environ Sci Pollut Res*, 19, 2400-2407.
- Odum E. P. (1969). The Strategy of Ecosystem Development. *Science*, 164(2877), 262-270.
- Ohno T., Parr T. B., Gruselle M.-C. I., Fernandez I. J., Sleighter R. L., & Hatcher P. G. (2014). Molecular Composition and Biodegradability of Soil Organic Matter: A Case Study Comparing Two New England Forest Types. *Environ. Sci. Technol*, 48(13), 7229-7236.
- Pankhurst C.E., McDonald H.J., Kirkby C.A., Buckerfield J.C., Michelsen P., O'Brien K.A., Doube B.M. (1995). Evaluation of soil biological properties as potential bioindicators of soil health. *Australian journal of Experimental Agriculture*, 35(7), 1015-1028.
- Peltre C., Fernandez J. M., Craine J. M., & Plante A. F. (2013). Relationships between Biological and Thermal Indices of Soil Organic Matter Stability Differ with Soil Organic Carbon Level. *SOIL SCIENCE SOCIETY OF AMERICA JOURNAL*, 70, 2020-2028.
- Plante A. F., Fernandez J. M., Haddix M. L., Steinweg J.M., & Conant R. T. (2011). Biological, chemical and thermal indices of soil organic matter stability in four grassland soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 43, 1051-1058.
- Plante A. F., FERNANDEZ J. M., & Leifeld J. (2009). Application of thermal analysis techniques in soil science. *Geoderma*, 153, 1-10.



- Plante A. F., Pernes M., & Chenu C. (2005). Changes in clay-associated organic matter quality in a C depletion sequence as measured by differential thermal analyses. *Geoderma*, 129, 186-199.
- Poeplau C., Herrmann Anke M., & Kätterer T. (2016). Opposing effect of nitrogen and phosphorus on soil microbial metabolism and the implications for soil carbon storage. *Soil Biology & Biochemistry*, (100), 83-91.
- Reuveny R. (2007). Climate change-induced migration and violent conflict. *Political Geography*, 26(6), 656-673.
- Riedel T., Iden S., Geilich J., Wiedner K., Durner W., & Biester H. (2014). Changes in the molecular composition of organic matter leached from an agricultural topsoil following addition of biomass-derived black carbon (biochar). *Organic Geochemistry*, 69, 52-60.
- Rossel P. E., Vähätalo A. V., Witt M., & Dittmar T. (2013). Molecular composition of dissolved organic matter from a wetland plant (*Juncus effusus*) after photochemical and microbial decomposition (1.25 yr): Common features with deep sea dissolved organic matter. *Organic Geochemistry*, 60, 62-71.
- Roth V.-N., Dittmar T., Gaupp R., & Gleixner G. (2013a). Ecosystem-Specific Composition of Dissolved Organic Matter. *Vadose Zone Journal*.
- Roth V.-N., Dittmar T., Gaupp R., & Gleixner G. (2013b). Latitude and pH driven trends in the molecular composition of DOM across a north south transect along the Yenisei River. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 123, 93-105.
- Rovira P., Kurz-Besson C., Coùteaux M.-M., & Ramon Vallejo V. (2008). Changes in litter properties during decomposition: A study by differential thermogravimetry and scanning calorimetry. *Soil Biology & Biochemistry*, 40, 172-185.
- Seidel M., Beck M., Riedel T., Waska H., Suryaputra I G.N.A., Schnetger B., ... Dittmar T. (2014). Biogeochemistry of dissolved organic matter in an anoxic intertidal creek bank. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 140, 418-434.
- Seifert A.-G., Roth V.-N., Dittmar T., Gleixner G., Breuer L., Houska T., & Marxsen J. (2016). Comparing molecular composition of dissolved organic matter in soil and stream water: influence of land use and chemical characteristics. *Science of the Total Environment*, 571, 142-152.
- Ugarte Nano C. C. (2015). Etude de la variabilité des propriétés physiques et hydrodynamiques d'un sol argileux sous l'effet de conduites en protection intégrée contre les adventices (Doctoral dissertation). Dijon.
- Winding A., Hund-Rinke K., & Rutgers M. (2005). The use of microorganisms in ecological soil classification and assessment concepts. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62(2), 230-248.
- Yin H., Li Y., Xiao J., Xu Z., Cheng X., & Liu Q. (2013). Enhanced root exudation stimulates soil nitrogen transformations in a subalpine coniferous forest under experimental warming. *Global Change Biology*, 19(7), 2158-2167.



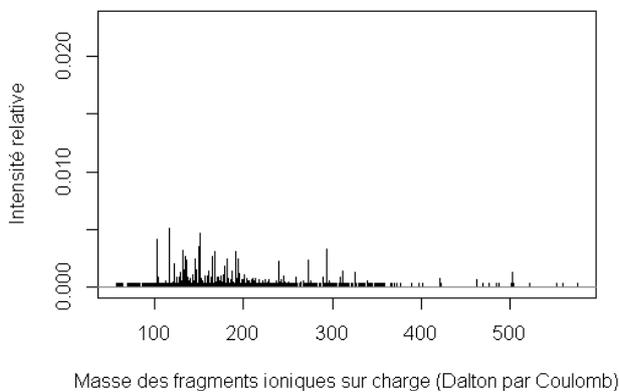
## 7. Annexes



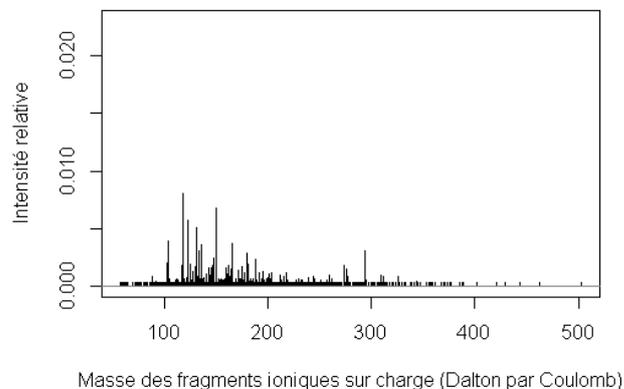
Annexe 1 : Graphiques des individus montrant les plans de dimensions 1-2, 1-3, 1-4 et 1-5 de l'ACP réalisées à partir des données issues de l'analyse de séquençage des ADN extraits des différents sols. 44% de la variabilité concernant la composition des communautés microbiennes des sols est expliqué (n=3). Chaque réplica d'un même sol est associé à une couleur. Les ellipses de confiance de chaque type de sol sont représentées.



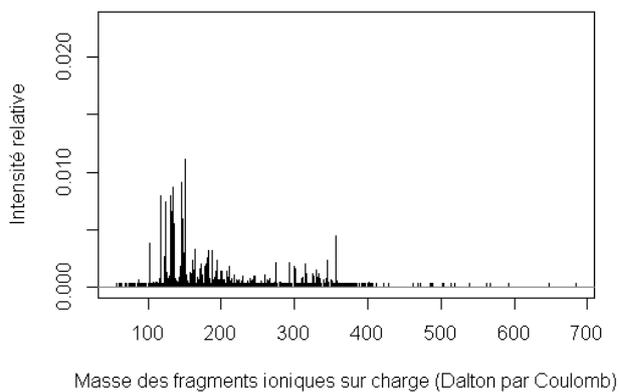
**WEOM de bois rural**



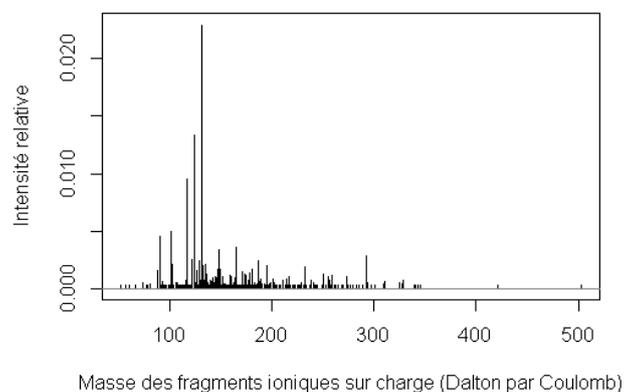
**WEOM de prairie rurale**



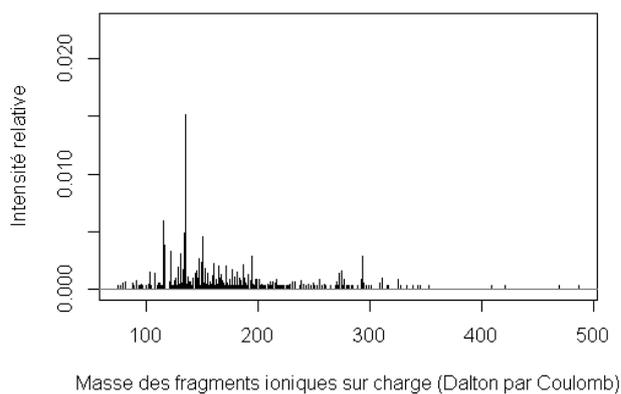
**WEOM de bois périurbain**



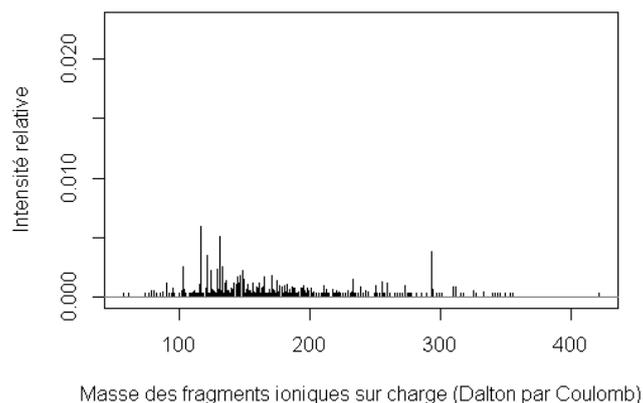
**WEOM de prairie périurbaine**



**WEOM de bois urbain**

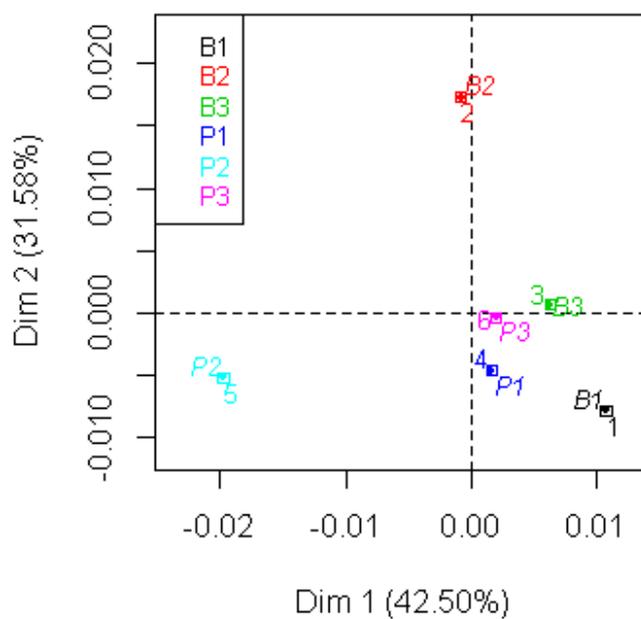
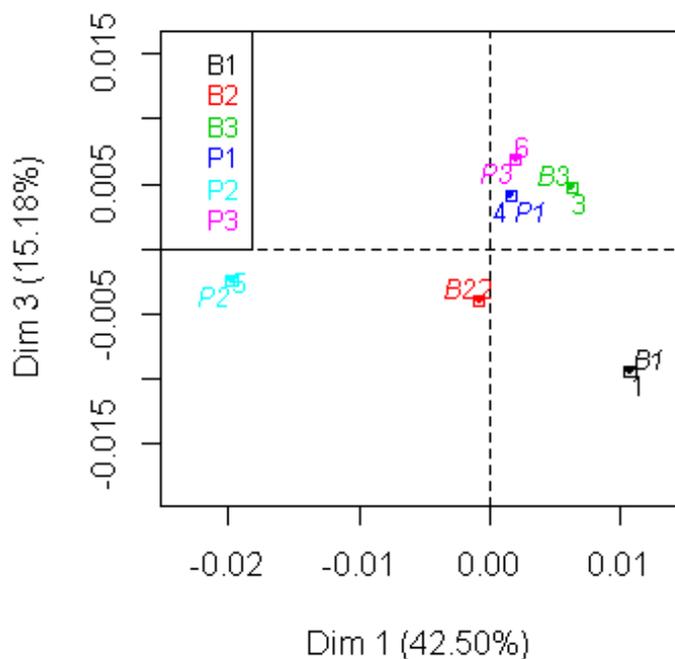


**WEOM de prairie urbaine**



Annexe 2 : Graphiques du spectre de masses de chaque WEOM (n=1) issu de l'analyse de spectrométrie de masse par infusion en électrospray négatif.





Annexe 3 : Graphiques des individus projetés sur les plans de dimensions 1-2 et 1-3 de l'ACP réalisées à partir des données issues de l'analyse par spectrométrie de masse expliquant à eux deux plus de 88% de la variabilité concernant la composition des MO (n=6) (B1 : MO de bois urbain , B2 : MO de bois périurbain, B3 : MO de bois rural, P1 : MO de prairie urbaine, P2 : MO de prairie périurbaine, P3 : MO de prairie rurale).







VetAgro Sup

DUFOUR, Louis, 2016, Vers une approche énergétique de la qualité écologique des sols : développement d'une enquête de la qualité organique des sols, 34 p., mémoire de fin d'études, soutenu à VetAgro Sup, 26 septembre 2016.

**STRUCTURE D'ACCUEIL ET INSTITUTIONS ASSOCIEES:**

- ♦ Institut d'Ecologie et des Sciences de l'Environnement (iEES Paris)
- ♦ sites de Grignon (campus AgroParisTech)
- ♦ Jussieu (Université Pierre et Marie Curie)

**ENCADRANTS :**

- ♦ Maître de stage : Nunan Naoise (IEES), FOTI Ludovic (UPMC), ABBADIE Luc (UPMC)
- ♦ Tutrice pédagogique : VASSAL Nathalie

**OPTION :** Alimentation Innovation et management de l'entreprise (ALIME)

## RESUMÉ

L'évaluation de la qualité des écosystèmes est un objectif de plus en plus fréquemment évoqué dans le cadre des projets de restauration de milieux dégradés. Ce travail fait l'hypothèse que l'intensité de transfert d'énergie dans le système sol pourrait servir d'indicateur générique de la qualité des sols.

Notre but était de comprendre comment le métabolisme des communautés microbiennes des sols était influencé par les différences de profils moléculaires et thermiques des MO, et de composition de ces communautés.

Les flux d'énergie après apport de matières organiques (MO) ont été mesurés par microcalorimétrie.

Nous avons analysé les compositions moléculaire des MO par spectrométrie de masse et communautaire par séquençage, et les avons mis en relation avec les dynamique de dissipation de l'énergie ajouté. Nous avons testé la pertinence de l'utilisation des propriétés thermiques des MO comme proxy des flux énergétiques.

Les différences dans la dissipation totale de chaleur métabolique entre MO semblent être expliquées en partie par la densité énergétique.

Les différences de dynamique de la part de l'énergie apportée dissipée sous forme de chaleur entre les sols sont expliquées par des différences dans les profils de compositions microbiennes après ajouts des MO de prairie urbaine et de forêt périurbaine.

Les différences de dynamique de la part de l'énergie apportée dissipée sous forme de chaleur métabolique entre les MO n'est pas expliqué par des différences par des différences entre les profils moléculaires des MO.

---

**Mots clés : qualité, sol, matière organique, énergétique, microcalorimétrie, spectrométrie de masse, analyse thermique.**