

Le RMQS au service de l'écologie microbienne des sols français

S. Dequiedt⁽¹⁾, B. Karimi⁽¹⁾, N. Chemidlin Prévost-Bouré⁽¹⁾, S. Terrat⁽¹⁾, W. Horrigue⁽¹⁾, C. Djemiel⁽¹⁾, M. Lelievre⁽¹⁾, V. Nowak⁽¹⁾, P. Wincker⁽²⁾, C. Jolivet⁽³⁾, N.P.A. Saby⁽³⁾, D. Arrouays⁽³⁾, A. Bispo⁽³⁾, I. Feix⁽⁴⁾, T. Eglin⁽⁴⁾, P. Lemanceau⁽¹⁾, P.A. Maron⁽¹⁾ et L. Ranjard^(1*),

1) Agroécologie, AgroSup Dijon, INRAE, Univ. Bourgogne, Univ. Bourgogne Franche-Comté, F-21000 Dijon, France

2) Génomique Métabolique, Genoscope, Institut de biologie François Jacob, Commissariat à l'Energie Atomique (CEA), CNRS, Université Evry, Université Paris-Saclay, Evry, France

3) INRAE - US 1106 InfoSol, F-45000 Orléans, France

4) ADEME, Service Agriculture et Forêt, 20, Avenue du Grésillé - BP 90406, 49004 Angers Cedex 01, France

* : Auteur correspondant : lionel.ranjard@inrae.fr

RÉSUMÉ

L'écologie microbienne des sols a longtemps été reconnue comme souffrant d'un certain manque de généralité car les études ont souvent été menées à l'échelle de parcelles voire de petits territoires et avec peu de sites investigués. Il en résulte un manque de connaissances sur les processus de distribution des populations et de la régulation de la diversité microbienne à grande échelle face à des modifications environnementales dues aux usages des terres ou au changement climatique. Dans les années 2000, le RMQS, avec 2 240 sites échantillonnés sur toute la France, a représenté une opportunité unique pour étudier les micro-organismes du sol sur de grandes échelles spatiales et ainsi développer un nouveau domaine scientifique : la biogéographie microbienne. Presque 20 ans après, cet article fait le bilan des connaissances qui ont été obtenues par l'application d'outils modernes de biologie moléculaire sur les sols du RMQS pour analyser l'abondance et la diversité des communautés microbiennes à l'échelle de la France. En plus des avancées fondamentales, ce bilan inclut les avancées finalisées qui ont permis de développer et de valider de nouveaux indicateurs microbiens de la qualité des sols et qui sont aujourd'hui directement opérables par les usagers du sol.

Mots clés

Sol, micro-organismes, biogéographie, bio indicateurs, écologie.

Comment citer cet article :

Dequiedt S., Karimi B., Chemidlin Prévost-Bouré N., Terrat S., Horrigue W., Djemiel C., Lelievre M., Nowak V., Wincker P., Jolivet C., Saby N.P.A., Arrouays D., Bispo A., Feix I., Eglin T., Lemanceau P., Maron P.A. et Ranjard L. - 2020 - Le RMQS au service de l'écologie microbienne des sols français, *Etude et Gestion des Sols*, 27, 51-71

Comment télécharger cet article :

<https://www.afes.fr/publications/revue-etude-et-gestion-des-sols/volume-27/>

Comment consulter/télécharger

tous les articles de la revue EGS :

<https://www.afes.fr/publications/revue-etude-et-gestion-des-sols/>

SUMMARY**THE SOIL QUALITY MONITORING NETWORK (RMQS) IS SERVING SOIL MICROBIAL ECOLOGY AT THE SCALE OF FRANCE**

Soil microbial ecology has long been known to suffer from a certain lack of genericness because studies were often performed at the scale of the plot or the small territory and only a small number of sites were investigated. Consequently, knowledge is now lacking about the processes involved in the large-scale distribution of microbial populations / regulation of microbial diversity in the face of the environmental modifications ensuing from land uses or climate change. The RMQS was set up in the 2000's. It included 2,240 sites sampled across the whole French territory, representing a unique opportunity to study soil microorganisms on large spatial scales and thus develop a new scientific field named microbial biogeography. Nearly twenty years later, the present article assesses the body of knowledge collected by applying novel molecular biology tools on RMQS soils to analyze the abundance and diversity of microbial communities at the scale of the French territory. In addition to basic knowledge advances, the assessment includes finalized advances that have brought about the development and validation of new microbial indicators of soil quality directly operative for soil users.

Key-words

Soil, microorganisms, Biogeography, bioindicators, ecology.

RESUMEN**LA RMQS AL SERVICIO DE LA ECOLOGÍA MICROBIANA DE LOS SUELOS FRANCESES**

La ecología microbiana de los suelos, durante muchos tiempos, fue reconocida como padeciendo de una cierta falta de genericidad porque los estudios fueron a menudo realizados a escala de parcelas incluso de pequeños territorios y con pocos sitios investigados. Resulta una falta de conocimientos sobre los procesos de distribución de las poblaciones y de la regulación de la diversidad microbiana a grande escala en frente a modificaciones ambientales debidas a los usos de la tierra o al cambio climático. En los años 2000, la RMQS, con 2 240 sitios muestreados en toda Francia, representó una oportunidad única para estudiar los microorganismos del suelo sobre grandes escalas espaciales y así desarrollar un nuevo campo científico: la biogeografía microbiana. Casi 20 años después, este artículo hace el balance de los conocimientos que fueron obtenidos por la aplicación de herramientas modernas de biología molecular sobre los suelos de la RMQS para analizar la abundancia y la diversidad de las comunidades microbianas a escala de Francia. Además de los avances fundamentales, este balance incluye los avances finalizados que permitieron desarrollar y validar nuevos indicadores microbianos de la calidad de los suelos y que son actualmente directamente utilizables para los usuarios del suelo.

Palabras clave

Suelo, microorganismos, biogeografía, bio indicadores, ecología.

Bien que les micro-organismes représentent les organismes vivants les plus abondants et les plus diversifiés de notre planète, le déterminisme des variations d'abondance et de diversité ainsi que les processus de régulation associés restent peu connus à ce jour. Ceci s'explique par plusieurs spécificités des micro-organismes comme i) leur petite taille et leur faible accessibilité dans les matrices environnementales, ii) leur forte densité (pour exemple 10^9 bactéries et 10^6 champignons par g de sol) et diversité (10^6 taxons bactériens et 10^4 espèces de champignons par g de sol, (Cuny *et al.*, 2017)), et iii) la faible disponibilité d'échantillonnage ou de réseau de surveillance sur de grandes étendues spatiales (Ranjard *et al.*, 2010). Pourtant les micro-organismes sont fortement impliqués dans de nombreuses fonctions d'intérêts assurées par le sol : dynamique des matières organiques et cycles du carbone et de l'azote, biodisponibilité des éléments nutritifs, dégradation de polluants organiques, rétention de polluants métalliques, action sur la structure des sols, etc. (Maron *et al.*, 2011). Comprendre et prédire leur distribution est donc essentiel pour mieux anticiper l'impact des perturbations environnementales sur la qualité et le fonctionnement biologique du sol.

Ces 40 dernières années, l'écologie microbienne du sol a subi une véritable révolution technologique dans sa façon de caractériser la diversité des communautés de micro-organismes grâce à l'avènement des outils de biologie moléculaire (Bouchez *et al.*, 2016). Ces techniques s'appuient sur l'extraction de l'information génétique (ADN) du sol et le séquençage haut débit des séquences taxonomiques bactériennes et fongiques directement à partir de cette matrice d'acides nucléiques (Zhou *et al.*, 2015). Ces approches moléculaires présentent l'avantage de s'affranchir de certaines limites liées à la culture des micro-organismes telluriques, dont on estime souvent que seulement 0,1 à 1 % d'entre eux sont cultivables sur des milieux synthétiques. Ils offrent ainsi de nouvelles perspectives en termes de résolution et de compréhension de la distribution de la diversité microbienne dans le sol et de son rôle potentiel dans le fonctionnement biologique des écosystèmes. De plus, la standardisation de ces outils et la possibilité de travailler en moyen débit représentent une réelle opportunité pour caractériser les communautés microbiennes sur des grands jeux d'échantillons (plusieurs centaines à plusieurs milliers) et donc pour intégrer de grandes échelles spatiales ou temporelles.

Dans la plupart des pays européens, il existe des réseaux de surveillance des sols qui déterminent systématiquement des caractéristiques des sols ou des couverts végétaux et leurs variations temporelle et spatiale à grande échelle (Gardi *et al.*, 2009; Griffiths *et al.*, 2011). Toutefois, la plupart de ces réseaux de surveillance ne prennent en considération que les paramètres pédoclimatiques des sols sans aucune intégration de paramètres biologiques et encore moins de la diversité des organismes indigènes. Ces réseaux deviennent des supports très pertinents

pour l'étude de la biologie des sols à grande échelle et ouvrent de nouvelles perspectives scientifiques.

La mise en place du Réseau de Mesures de la Qualité des Sols (RMQS) à l'échelle nationale au début des années 2000 par le Groupement d'Intérêt Scientifique SOL (www.gissol.fr) a permis d'appliquer les outils modernes de caractérisation moléculaire des communautés microbiennes à grande échelle sur les horizons de surface des sols. L'approche à grande échelle a apporté un éclairage nouveau à l'écologie microbienne en donnant une dimension spatiale des communautés microbiennes jusque-là étudiée sur des dispositifs de petite échelle.

Ce réseau d'observation des sols comprend 2 240 sites répartis en France métropolitaine et insulaire selon une grille systématique de 16x16 km et représente un des échantillonnages les plus intensifs, en termes de nombre de sites, sur une aussi grande surface ($5,5 \times 10^5$ km²) et par là même une première mondiale pour aborder l'écologie des communautés microbiennes des sols à cette échelle. Toutes les caractéristiques environnementales (type de sol, climat, mode d'usage...) sont disponibles sur l'ensemble des échantillons de sol ce qui représente une source de données inégalée à cette échelle.

Dans cet article, nous présentons les résultats obtenus depuis une vingtaine d'années sur les variations d'abondance et de diversité des communautés microbiennes à l'échelle de la France. À cette échelle, nous avons pu définir les processus écologiques ainsi que les paramètres de l'environnement qui influencent le plus ces communautés microbiennes. De nombreux outils de fouille de données, de géostatistiques et de modélisation statistique ont été développés pour confronter de façon robuste et innovante les données environnementales et celles sur l'abondance et la diversité des communautés microbiennes. Toutes ces approches analytiques ont permis de répondre à des questions de recherche fondamentale en écologie et biogéographie microbienne mais aussi de développer des référentiels et des indicateurs microbiens de la qualité des sols directement applicables pour élaborer un diagnostic à destination des usagers.

LA BIOGÉOGRAPHIE DES COMMUNAUTÉS MICROBIENNES

La biogéographie est l'étude de la diversité des organismes vivants à de grandes échelles spatiales et temporelles (Pellmyr *et al.*, 1998; Morrone, 2000). Elle n'a été appliquée qu'au début du 20^e siècle pour l'étude des micro-organismes avec le premier postulat de Baas-Becking « tout est partout, mais, l'environnement sélectionne ». Il faudra attendre le début du 21^e siècle et le développement simultané des outils de biologie moléculaire, et des réseaux d'échantillonnage de sols à grande échelle, pour voir apparaître une série de travaux robustes et

innovants sur la distribution spatiale de la diversité microbienne des sols (Martiny et al., 2006). Dans ce chapitre, nous décrivons les travaux de biogéographie microbienne menés à l'échelle de la France grâce à l'utilisation du RMQS.

Distribution de la biomasse moléculaire microbienne et de la diversité microbienne

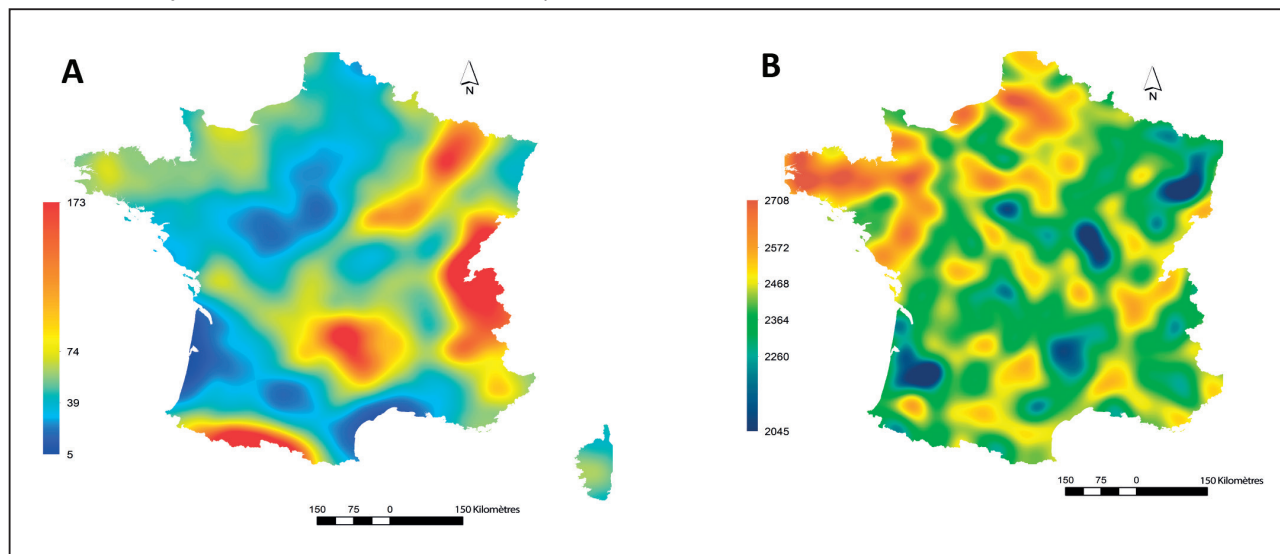
Depuis la fin des années 80, le développement des techniques de biologie moléculaire a permis l'obtention d'ADN directement à partir d'un échantillon environnemental, mais aussi sa caractérisation (PCR quantitative, génotypage, biopuces à ADN, hybridation *in situ*, séquençage, etc.) (Cuny et al., 2017). L'analyse de cet ADN environnemental nous informe sur l'identité des micro-organismes présents, leur abondance, leur proportion dans la communauté mais aussi leurs potentialités métaboliques et fonctionnelles, tout en considérant que les bases de données disponibles ne fournissent des informations que sur les organismes connus.

Les méthodes développées et standardisées pour l'extraction de l'ADN microbien à partir d'un sol permettent une estimation de l'abondance des micro-organismes par la quantification de la « biomasse moléculaire microbienne » (Dequiedt et al., 2011). Cette quantité d'ADN extrait peut être considérée comme reflétant majoritairement la présence de micro-organismes (bactéries, archées, etc), comme cela a été démontré (Delmont et al., 2011). À l'échelle du territoire

métropolitain français, l'estimation de la biomasse moléculaire microbienne dans l'ensemble des échantillons du RMQS a permis l'établissement de la première carte de répartition de l'abondance des micro-organismes à l'échelle d'un pays et d'aborder les concepts de biogéographie microbienne. Les résultats obtenus révèlent une distribution hétérogène et structurée en profils biogéographiques d'environ 100 km de rayon pour la partie supérieure des sols (0-30 cm). La biomasse moléculaire microbienne moyenne est de 61 µg d'ADN par gramme de sol avec nos conditions d'extraction (mais montrant une forte gamme de variation allant de 2 à 629 µg d'ADN par gramme de sol). Ainsi, plus de 75 % des sols analysés montrent des coefficients de variation par rapport à cette moyenne entre -83,6 % (correspondant à 10 µg d'ADN par gramme de sol) et +63,9 % (100 µg d'ADN par gramme de sol), attestant la présence d'une importante vie microbienne dans les sols (*figure 1*). Les sols les plus riches en ADN microbien sont situés en Lorraine, en Champagne-Ardenne et dans les massifs montagneux (Alpes, Massif central, Pyrénées, Jura). Les sols les plus pauvres en micro-organismes se trouvent dans le Bassin parisien, les Landes et le Languedoc-Roussillon. Une telle répartition démontre une forte influence du matériau parental et donc de la typologie des sols ainsi que de leur mode d'usage (forêts, prairies, sols agricoles, vignes...), plus que des paramètres globaux (climats, géomorphologie). Ainsi, la distribution de la biomasse microbienne à l'échelle de la France est principalement expliquée par les paramètres

Figure 1 : Cartographie nationale de la Biomasse moléculaire microbienne (A) et de la diversité bactérienne (B). La Biomasse moléculaire microbienne est exprimée en microgramme d'ADN par gramme de sol et la diversité bactérienne en nombre d'UTO (unité taxonomique opérationnelle). D'après Karimi et al., 2018a, Atlas français des bactéries du sol, éditions Biotope et du Muséum.

Figure 1 : National mapping of molecular microbial biomass (A) and of bacterial diversity (B). Molecular microbial biomass is expressed in micro gram DNA per gram of soil and bacterial diversity in numbers of OTU (operational taxonomic units). Modified from Karimi et al., 2018a, Atlas français des bactéries du sol, éditions Biotope et du Muséum.



physico-chimiques du sol (à hauteur de 20,5 %), la géographie (6,1 %) et le mode d'usage (2,9 %), le climat n'influençant que très peu (0,8 %) (Dequiedt *et al.*, 2011).

Plus précisément, la teneur en argile, la quantité de carbone organique et le pH sont des facteurs influençant fortement cette distribution. Ces résultats confirment d'autres études antérieures en écologie des sols qui constataient par exemple que les sols à texture fine confèrent un habitat plus favorable à la vie microbienne, notamment par une meilleure protection contre la dessiccation, une meilleure diffusion des gaz et une meilleure disponibilité du carbone et de l'azote, ressources nécessaires pour les micro-organismes. De plus, la comparaison de cette biomasse moléculaire microbienne en fonction du mode d'usage des sols montre que les sols sous forêts et prairies abritent une plus grande quantité de micro-organismes que ceux sous vignes et vergers, ou grandes cultures. Cela peut s'expliquer par l'absence de couvert végétal permanent, par l'influence du travail du sol, et/ou par les itinéraires techniques (fertilisation chimique, pesticides, etc.) qui mènent souvent à une diminution de la quantité de matières organiques ou à des agressions mécaniques ou toxiques plus directes.

Les technologies de séquençage ADN haut-débit ont permis de quantifier la diversité microbienne des sols à l'échelle du territoire métropolitain français (profondeur d'échantillonnage 0-30 cm) à partir de produits PCR ciblant des gènes ribosomiques. Plus précisément, après pyroséquençage (technologie 454) des produits PCR ciblant l'ADNr 16S des bactéries et des archées, et obtention de 10 000 séquences propres par échantillon, ces séquences ont été comparées entre elles et regroupées par taxons ou OTUs (*operational taxonomic units*). Le nombre d'OTUs microbiens dans un sol permet de définir la diversité en termes de richesse taxonomique (Terrat *et al.*, 2017), cette richesse reflétant le nombre de groupes microbiens (espèces, genres, etc.) mis en évidence par les séquences obtenues.

Le nombre moyen d'OTUs qui a été détecté est de 2 079, avec des variations allant de 870 pour les sols présentant la plus faible diversité bactérienne à plus de 3 074 pour les sols où cette diversité est la plus élevée. La carte de distribution à l'échelle de la France de cette richesse taxonomique bactérienne montre des variations importantes et structurées dans l'espace avec de larges zones géographiques (patch de 110 km de diamètre, *figure 1*). Cette distribution spatiale est différente de celle obtenue avec la biomasse moléculaire microbienne. En effet, les sols les plus riches en taxons sont situés en Bretagne, dans le Nord, et sur le pourtour méditerranéen. Les sols les plus pauvres, quant à eux, se trouvent dans le Sud-Ouest (Landes), le Centre et le Nord-Est. À cette échelle, aucune influence du climat, ni de la géomorphologie des sols n'est démontrée sur la richesse, car ces variations sont majoritairement expliquées par les caractéristiques physico-chimiques du sol (22 %). Néanmoins, les facteurs influençant la diversité diffèrent de ceux influençant

l'abondance des micro-organismes. En effet, la diversité bactérienne est influencée par le pH du sol, sa teneur en argile, et la qualité (rapport C/N) des matières organiques présentes. Plus simplement, les sols alcalins, à texture grossière et avec des matières organiques facilement dégradables sont généralement plus aptes à héberger une grande diversité de taxons bactériens.

La comparaison de la richesse bactérienne en fonction du mode d'usage des sols révèle que les sols sous prairies et forêts présentent des niveaux de diversité plus bas que ceux des sols agricoles et viticoles. Ces différences peuvent s'expliquer en s'appuyant sur le concept de « perturbation intermédiaire » qui fait l'hypothèse que la biodiversité d'un écosystème est maximale lorsque ce dernier subit une perturbation intermédiaire, et minimale lorsqu'il subit une perturbation faible ou forte (en raison de processus d'exclusion compétitive des espèces ou de sélection, respectivement). Toutefois, ce niveau de richesse ne renseigne pas sur la qualité de la diversité microbienne, et plus spécifiquement sur la présence d'espèces bénéfiques ou délétères pour son fonctionnement. Des analyses taxonomiques plus poussées à partir des séquences obtenues permettent d'identifier les taxons microbiens et leur distribution.

Distribution des taxons bactériens

Les analyses bio-informatiques ont été effectuées à l'aide du pipeline BIOCOT-PIPE développé par l'équipe BIOCOT (INRAE, Dijon, France). Le détail de toutes les étapes est décrit dans (Terrat *et al.*, 2017). Brièvement, plusieurs étapes de nettoyages et de filtres sont nécessaires afin de ne garder que les séquences de bonne qualité. L'enjeu est (i) d'éliminer les séquences dites chimériques correspondant à de « fausses » séquences générées lors de l'étape de PCR, (ii) de réduire le jeu de données en n'utilisant que des séquences uniques et (iii) de réaliser une agrégation (*clustering*) de nos séquences suivant un seuil de similarité à 95 % afin de former des OTUs (Unités Taxonomiques Opérationnelles) correspondant à nos genres bactériens. Une normalisation du nombre de séquences à 10 000 séquences par échantillon a été faite afin de pouvoir comparer les échantillons entre eux. La base de données SILVA r114 a été utilisée afin d'assigner une taxonomie aux séquences et ainsi classer les bactéries du rang taxonomique du phylum jusqu'au genre. Après un alignement global de l'ensemble des séquences basées sur les structures secondaires des ADNr grâce au logiciel Infernal, une étape de *post-clustering* a été effectuée avec la méthode ReClustOR (Terrat *et al.*, 2019) développée au sein de l'équipe BIOCOT. Cette méthode permet ainsi de comparer facilement les échantillons d'intérêts aux données microbiologiques du RMQS.

À l'échelle de la France, les taxons bactériens et d'archées détectés se répartissent au sein de 31 phyla (28 de bactéries et 3 d'archées), 56 classes, 147 ordres, 267 familles et 1 355 genres uniques. Les 31 phyla et les 5 sous-phyla de Proteobacteria

sont classés en cinq groupes, selon leur abondance relative et leur ubiquité: les dominants ($> 10\%$), les abondants ($5 - 10\%$), les intermédiaires ($0,5 - 5\%$), les minoritaires ($0,01 - 0,5\%$) et les rares ($< 0,01\%$). Les phyla dominants (Bacteroidetes, Alphaproteobacteria et Actinobacteria) et abondants (Planctomycetes, Firmicutes, Gammaproteobacteria, Acidobacteria, Betaproteobacteria et Deltaproteobacteria) constituent plus de 84 % des communautés (figure 2) (Karimi et al., 2018b). À l'inverse, certains phyla sont minoritaires comme Armatimonadetes (0,15 %) ou rares comme Tenericutes ($< 0,01\%$). À un niveau taxonomique plus fin, 47 genres ont une abondance relative supérieure à 0,5 % des séquences et ils représentent en moyenne 62 % de la communauté totale. Ils sont très cosmopolites puisqu'ils sont détectés dans plus de 98 % des sols français. Si le phylum Bacteroidetes est le plus abondant au sein des échantillons, c'est le genre *Holophaga*, du phylum Actinobacteria, qui domine avec plus de 6 % des séquences. Ces phyla jouent des rôles importants dans les cycles biogéochimiques ou dans la dégradation de xénobiotiques et polluants organiques, comme par exemple certains genres du phylum Bacteroidetes (*Pedobacter* sp.). Chaque taxon (phylum ou genre) a une biogéographie qui lui est propre, caractérisée par une distribution géographique particulière et des processus écologiques spécifiques.

Trois types de distribution géographique avec des tailles croissantes de patch sont observés; supérieure à 200 km de rayon, entre 100 et 150 km de rayon, et inférieure à 50 km de rayon. La distribution de chaque taxon s'explique soit par sa capacité de dispersion soit par la sélection par des filtres environnementaux (sols, climat, géomorphologie, mode d'usage)

en lien avec ses attributs écologiques (figure 3). Par exemple, la distribution hétérogène des Firmicutes, structurée avec un profil biogéographique de grande taille, est principalement liée à leur forte capacité de dispersion sur de grandes distances grâce à des processus d'aérosolisation (capacité à sporuler). De plus, ce phylum est favorisé dans les sols à pH acide ou très acide, sous couvert de prairies et de grandes cultures (Nord, Saône-et-Loire, Allier, sud de la Bretagne, Basse-Normandie). À l'inverse, la distribution des Bacteroidetes est caractérisée par de plus petits patches (124 km de rayon) principalement dus à des processus de sélection par le type de sol. Ce phylum est stimulé dans les sols plutôt argileux à pH basique et à faible C/N. L'usage du sol a un effet mineur sur ce taxon mais les sols basiques de forêts lui sont favorables. Certains phyla en revanche sont plus fortement influencés par le mode d'usage que par le type de sol. C'est le cas des Armatimonadetes qui se retrouvent plus particulièrement dans les sols agricoles (grandes cultures, vignes et vergers). D'autres taxons, comme les Thaumarchaeota, sont soumis de façon équilibrée à la dispersion et à des processus de sélection par le sol et le mode d'usage (Karimi et al., 2018a).

La relation aire-espèce

Ces 20 dernières années, une question centrale en biogéographie microbienne était d'élucider si les micro-organismes du sol présentent une écologie particulière comme le suggère le postulat de Baas Becking (1934): « tout est partout, mais l'environnement sélectionne »; ou s'ils sont soumis aux mêmes processus écologiques que les macroorganismes et les plantes: la sélection environnementale, la dispersion (i.e. le déplacement et l'établissement avec succès d'un organisme

Figure 2 : Photographies de bactéries du sol réalisées en microscopie électronique à balayage (plateforme INRAE DIMACELL).

Figure 2: Electronic scanning microscope pictures of soil bacteria (platform DIMACELL INRAE).

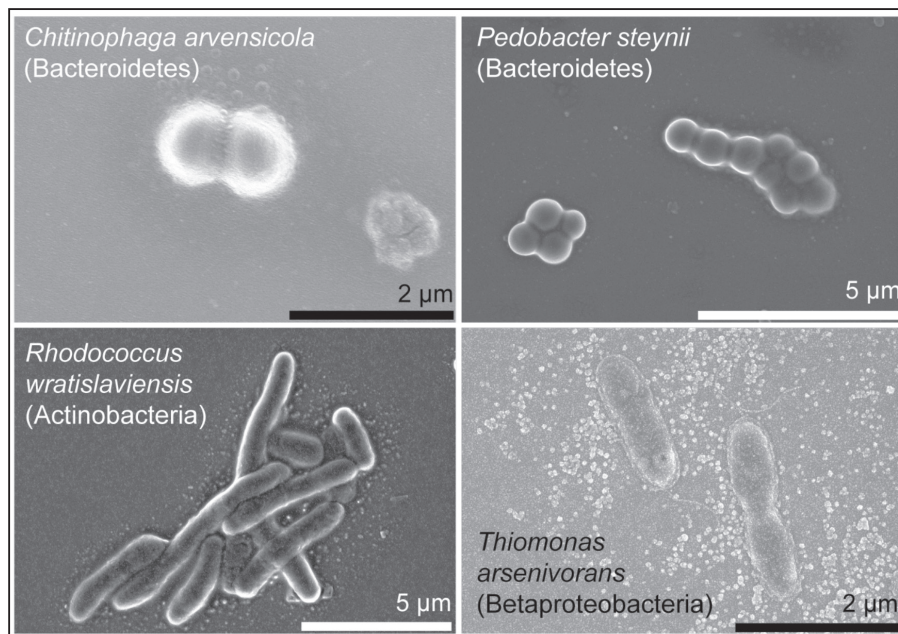
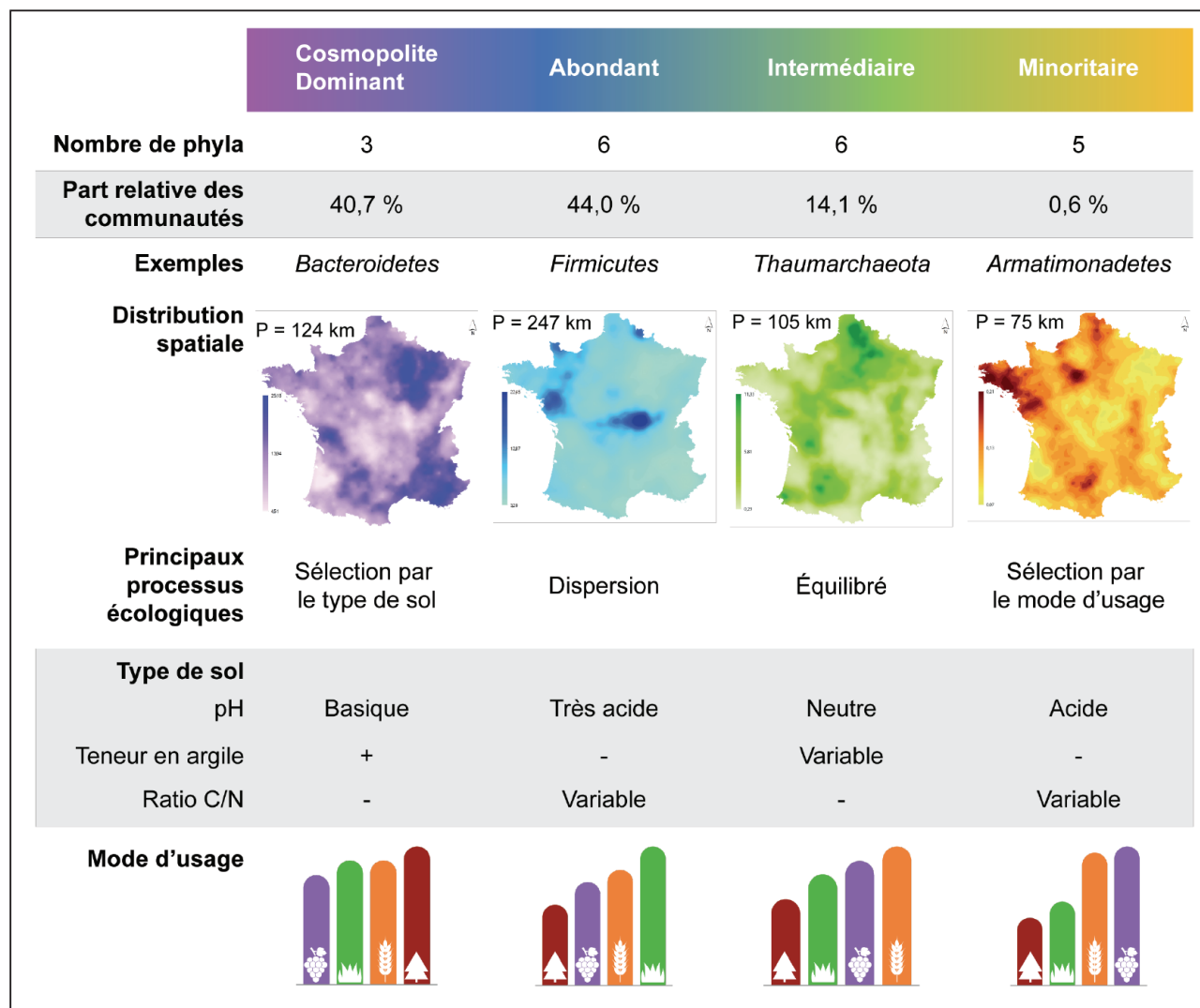


Figure 3 : Caractéristiques écologiques et distribution des phylums bactériens et à l'échelle de la France.**Figure 3:** Distribution and ecological attributes of bacterial phyla at the scale of France.

dans un nouveau lieu), la dérive écologique (*i.e.* des variations d'abondance relative des différents taxons de la communauté suite à différents événements démographiques) et la mutation (*i.e.* l'apparition de nouvelles espèces suite à des mutations génétiques) (Baas Becking, 1934). Pour tester cette hypothèse, une approche est d'évaluer si les communautés microbiennes des sols suivent les mêmes lois que les macroorganismes et les végétaux; en particulier l'une des plus robustes et anciennes lois en écologie: la relation Aire-Taxons (TAR; Gleason, 1922). Cette relation traduit l'augmentation de la richesse taxonomique (S_A) avec l'aire d'échantillonnage (A). Elle est influencée par les processus de dispersion et de sélection au niveau de son paramètre z correspondant au taux de diversification (aussi

qualifié de « turnover ») des communautés. Étudiée depuis le début de l'écologie quantitative, elle est souvent représentée sous la forme:

$$S_A = S_0 * A^z \quad \text{Equation (1)}$$

Néanmoins, avant l'essor des techniques de séquençage haut-débit permettant une caractérisation fine des taxons bactériens présents, l'évaluation de cette relation s'appuyait sur des données d'empreintes moléculaires. Le taux de diversification des communautés bactériennes était alors estimé à travers la décroissance de la similarité entre communautés avec l'augmentation de l'interdistance (d) suivant l'équation décrite dans Green et Bohannan (2006) et Harte *et al.* (2009).

$$\log_{10}(\chi_d) = -2 * z * \log_{10}(d) \quad \text{Equation (2)}$$

Dans les deux cas, le paramètre z est estimé par régression linéaire ou non linéaire en fonction de la forme de l'équation et suivant la méthode des moindres carrés.

L'étude des communautés bactériennes à l'échelle du RMQS a suivi cette évolution. Les premières estimations du taux de diversification des communautés bactériennes ont été réalisées sur la base d'empreintes moléculaires (équation 2) et ont permis de démontrer qu'elles suivaient une TAR significative, ceci en accord avec d'autres études parues à cette période (Green et al., 2004; Green et Bohannan, 2006; Horner-Devine et al., 2004; Martiny et al., 2006). La valeur estimée du taux de diversification des communautés bactériennes en France était faible: $0,006 (+/- 7 \cdot 10^{-4}, P < 0,001$; Ranjard et al., 2013), mais du même ordre de grandeur que les autres estimations basées sur la même méthode de caractérisation (Horner-Devine et al., 2004; Fierer et al., 2007). Sachant que le processus de dispersion a pour effet de réduire la valeur de z et que la sélection environnementale a tendance au contraire à l'augmenter (Hanson et al., 2012), les différents auteurs s'accordaient à dire qu'une valeur de z faible mais non nulle suggérait que la diversification des communautés bactériennes des sols était soumise à la fois au processus de sélection environnementale et au processus de dispersion. Le déploiement de méthodes de séquençage haut-débit pour caractériser les communautés bactériennes des sols a permis de revisiter cette estimation (équation 1) mettant en évidence une valeur beaucoup plus élevée ($z = 0,29 +/- 5 \cdot 10^{-4}$) en accord avec les valeurs observées sur d'autres jeux de données mettant en œuvre les mêmes outils moléculaires (Zinger et al., 2014; Powell et al., 2015). Malgré cette différence d'estimation, ce résultat a permis de conforter les hypothèses précédentes sur les processus écologiques en jeu. En effet, la valeur estimée de z est du même ordre de grandeur que celles observées pour les macroorganismes ($0,1 - 0,8$; Horner-Devine et al., 2004; Drakare et al., 2006) et laisse supposer que les micro-organismes sont bien influencés par les mêmes processus écologiques que les macroorganismes.

La diversité des macroorganismes étant fortement influencée par la diversité des habitats disponibles et leur distribution spatiale, un moyen d'évaluer l'hypothèse précédente était de confronter le taux de diversification des communautés bactériennes des sols à celui des habitats microbiens (figure 4, Ranjard et al., 2013). Dans ce cadre, un habitat microbien était défini par l'ensemble des conditions environnementales (caractéristiques physico-chimiques des sols, occupation du sol, température annuelle moyenne et somme des pluies annuelles) observées au niveau d'un site RMQS et associé à la communauté bactérienne observée sur ce site. Cette approche a été réalisée sur le RMQS en calculant le taux de diversification des communautés bactériennes et des habitats microbiens pour des aires géographiques de 140 km de rayon centrées sur chaque site RMQS. Ceci a permis de mettre en évidence une relation linéaire très significative ($R^2=0,65$; $P < 0,001$). La

penne positive de la relation met en évidence que, dans la zone géographique considérée, plus il y a d'habitats microbiens différents (taux de diversification élevé, figure 4), plus le taux de diversification des communautés bactériennes des sols est élevé; i.e. plus les communautés bactériennes sont diversifiées. De plus, la penne de la relation précédente est dépendante de la configuration paysagère, suggérant qu'un paysage diversifié en mosaïque permet d'avoir une diversification des communautés bactériennes plus importante. En conclusion, les communautés bactériennes du sol à grande échelle spatiale se diversifient dans l'espace à des niveaux équivalents à ceux des macroorganismes et leur diversification est dépendante de la diversité et de la configuration spatiale de leurs habitats.

Les réseaux d'interactions bactériens

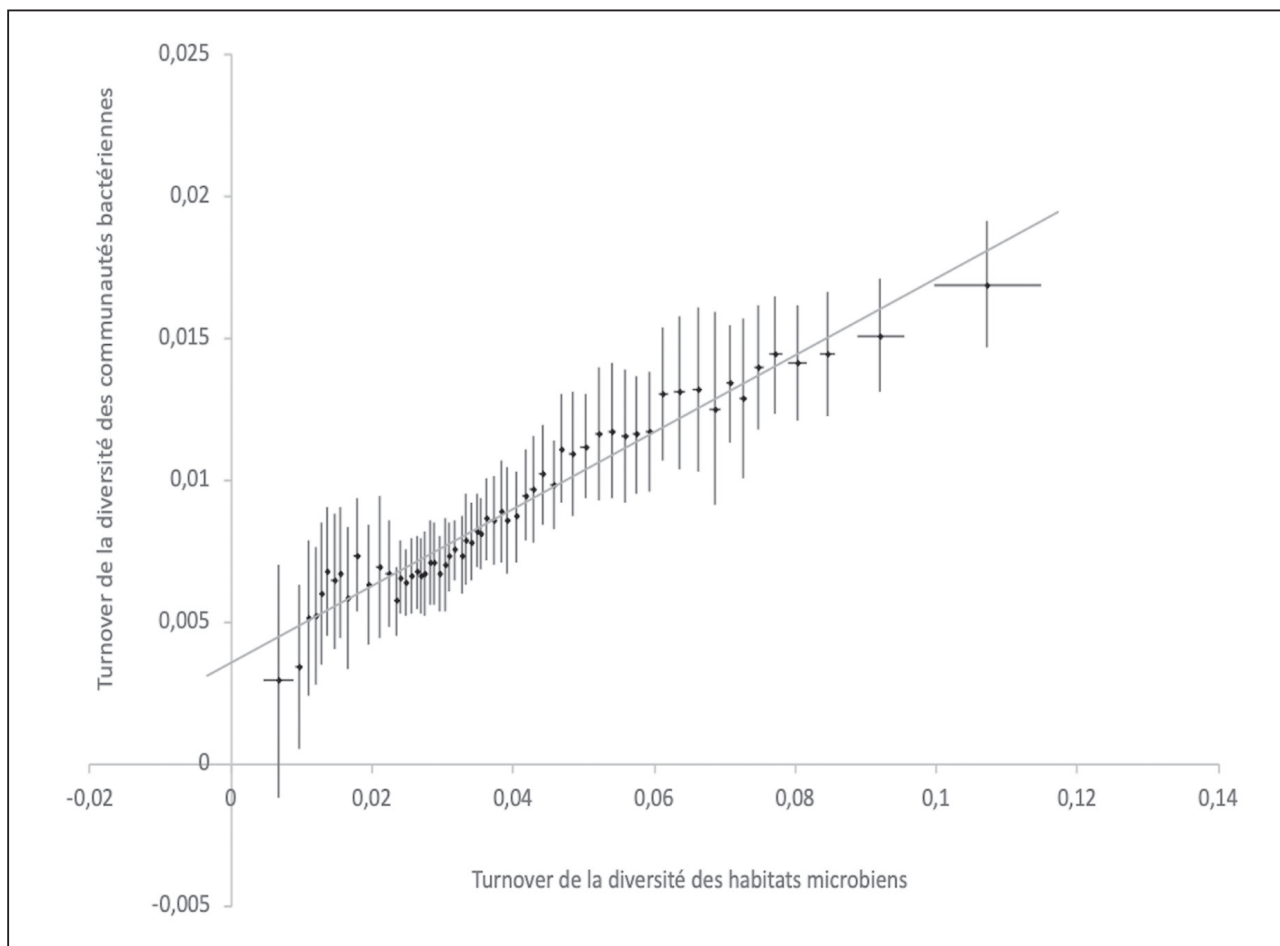
Au-delà des notions de niveau de diversité ou de l'identification des taxons présents dans les sols, l'analyse des réseaux d'interactions biotiques entre les micro-organismes évalue le niveau de complexité des communautés. L'hypothèse sous-jacente, qui émane des travaux menés sur les macro-organismes (Schleuning et al., 2015), est que la complexité et la structure des réseaux d'interaction sont fortement liées au bon fonctionnement d'un écosystème. Chez les micro-organismes, quelques études portant sur le microbiote intestinal confirment le lien entre la complexité du réseau microbien et l'état de santé des patients (Baldassano et Bassett, 2016). Etant donné les limites techniques que pose l'observation de la multitude des interactions survenant au sein des communautés microbiennes, une pratique répandue est d'observer les co-occurrences entre taxons pour refléter les interactions (Karimi et al., 2017).

Les co-occurrences (ou co-abondances) sont estimées à partir de la distribution de l'abondance relative des taxons. Pour chaque paire de taxons présents dans la communauté, si les distributions évoluent conjointement au travers des échantillons, alors on dit que les taxons co-occurrent et si les distributions évoluent de façon disjointe, on dit qu'il y a co-exclusion entre les taxons. Chaque relation est testée statistiquement afin de limiter les faux-positifs. La synthèse de l'ensemble des co-occurrences et des co-exclusions identifiées dans la communauté forme un réseau, qui peut être décrit grâce à des indicateurs caractérisant son architecture (nombre de taxons connectés, nombre de liens, ratio entre liens positifs et liens négatifs, taxons centraux appelés « hub »).

À l'échelle du RMQS, les réseaux de co-occurrence bactériens ont été analysés en fonction du mode d'usage (Karimi et al., 2019). Les résultats montrent des réseaux bactériens avec un nombre de liens maximal dans les sols de forêts, suivis par les prairies et les grandes cultures et un nombre de liens plus faible dans les sols de vignes et vergers (figure 5). En forêt, où les sols sont les moins perturbés, la structure du réseau constitue une pelote dense, hyper-connectée. En prairie, dans lesquels l'intensité

Figure 4 : Relation entre le taux de diversification des habitats microbiens (z_{habitat}) et le taux de diversification de diversité des communautés bactériennes (z_{bacteria}). Les points représentent des moyennes pour lesquelles la taille d'échantillon varie entre 34 et 35 mesures. Les barres d'erreur correspondent à des écarts-types sur la moyenne calculée pour chaque quantile de taux de diversification des habitats microbiens, ces derniers étant définis de manière à avoir une taille d'échantillon égale ($n=35$). La droite grise matérialise la régression linéaire entre les deux variables suivant l'équation $z_{\text{bacteria}} = 0,135 * z_{\text{habitat}} + 0,0036$ ($R^2=0,65$, $P<0,001$). Adaptée de Ranjard et al., 2013.

Figure 4: Relationship between microbial habitats diversification rate (z_{habitat}) and bacterial communities diversification rate (z_{bacteria}). Dots represent mean values for classes defined as quantiles of equal sample size ($n= 34$ to 35). Error-bars correspond to standard error of the mean ($n=35$) for each quantile for habitat diversification rate (horizontal) and bacterial community diversification rate (vertical). Grey line correspond to a linear regression model of type III between z_{habitat} and z_{bacteria} with the following equation: $z_{\text{bacteria}} = 0.135 * z_{\text{habitat}} + 0.0036$ ($R^2=0.65$, $P<0.001$). Adapted from Ranjard et al., 2013.



des pratiques agricoles reste modérée mais plus récurrente, le réseau perd légèrement en densité et 2 pôles commencent à se former tout en restant fortement inter-connectés. En grandes cultures, où le travail du sol et les intrants sont réguliers, la dégradation du réseau s'accroît avec une diminution du niveau de connexion du réseau qui laisse apparaître des chaînes longues mais surtout des satellites, c'est-à-dire des groupes de taxons fortement connectés entre eux mais s'isolant du reste de la communauté. Enfin la simplification du réseau est maximale

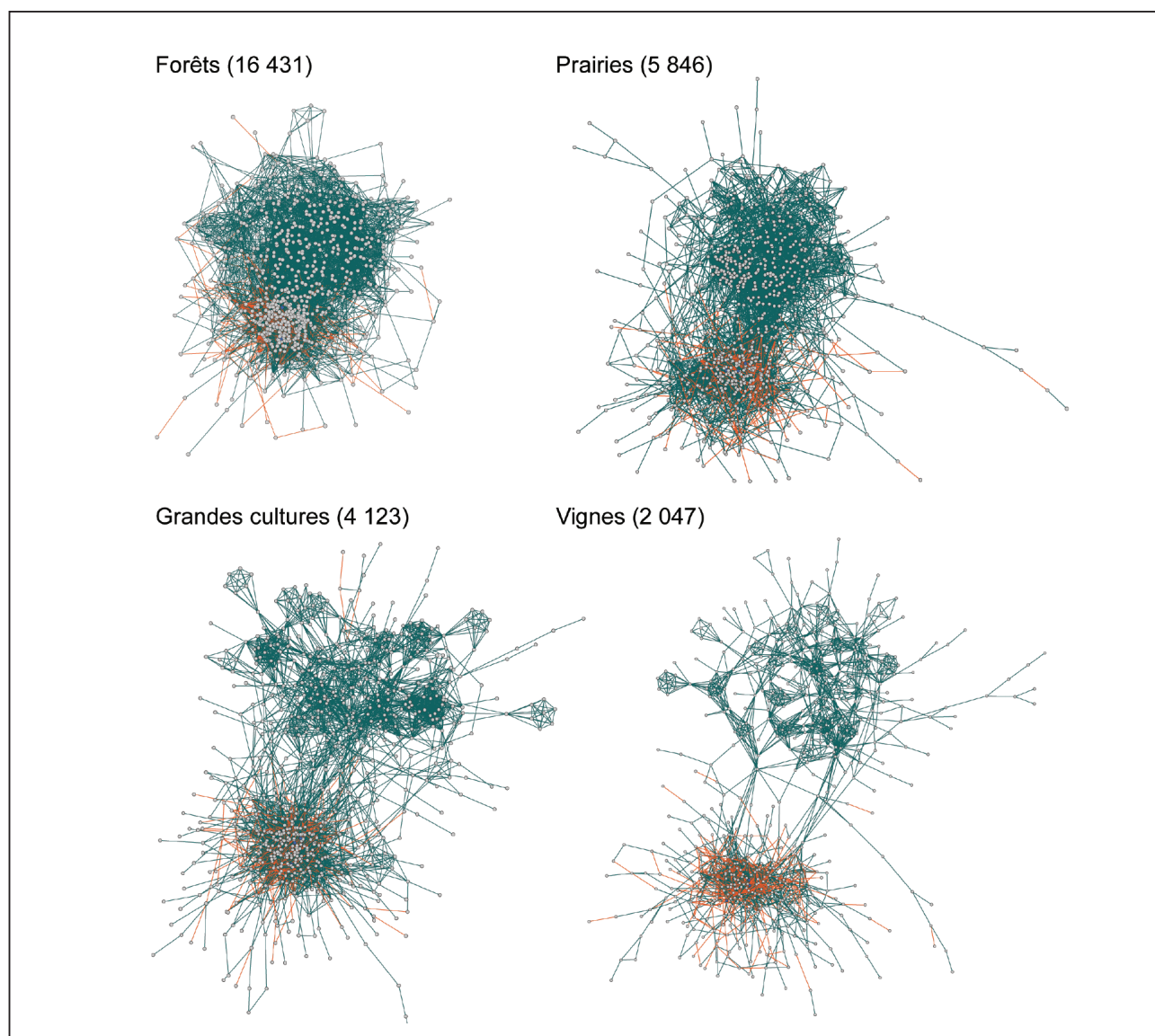
dans les sols de vigne (perturbés à fréquence et intensité plus élevée), où les satellites sont encore plus isolés et de taille réduite. Cette modification du réseau bactérien du sol correspond à une perte de complexité de 87 % entre les forêts et les vignes. Les interventions mécaniques ou les intrants appliqués aux sols agricoles sont susceptibles d'avoir des répercussions sur l'isolement des populations microbiennes, notamment par trois voies: 1- la réduction de la biomasse microbienne, et donc du nombre de cellules, induit une réduction de la probabilité de

rencontre et d'interaction des organismes (Tecon et Or, 2017); 2- la stimulation de bactéries opportunistes ou pathogènes dans les sols agricoles (Lienhard et al., 2014) qui crée des populations métaboliquement indépendantes les unes des autres; 3- la perturbation physique des sols qui détruit la connectivité spatiale entre les différents micro-habitats (Cordero et Datta, 2016). La modification des réseaux bactériens se caractérise également par une modification des populations hubs, c'est-à-dire les taxons centraux les plus connectés et autour desquels

s'organise le réseau. Dans les sols forestiers et prairiaux, ces taxons centraux sont essentiellement des Bacteroidetes, des bactéries connues pour être copiotrophes. Dans les systèmes agricoles, les réseaux reposent principalement sur des genres oligotrophes appartenant aux phyla Actinobacteria et Alpha-Proteobacteria, dont *Bradyrhizobium* qui est connu pour ces relations symbiotiques avec les légumineuses (Karimi et al., 2018b). Ces changements sont cohérents avec le fonctionnement différent des sols selon leur mode usage.

Figure 5 : Réseaux d'interactions bactériens des sols pour les quatre grands modes d'usage de France. Les liens positifs sont représentés en bleu, les liens négatifs en orange. Les ronds représentent les genres bactériens. Le nombre de liens du réseau est indiqué entre parenthèses.

Figure 5: Soil bacterial network interactions between land use in France. Positive links are in blue and negative links in orange. Number of links is indicated in brackets.



Définition des habitats microbiens à l'échelle de la France

À l'échelle de la France, le RMQS constitue également un outil particulièrement robuste pour définir les habitats des micro-organismes. Les habitats microbiens à l'échelle macro-écologique doivent être identifiés sans *a priori* et intégrer l'ensemble des paramètres environnementaux sur la physico-chimie du sol, le climat et le type de couvert végétal. L'échantillonnage systématique du RMQS, la diversité pédoclimatique de la France métropolitaine ainsi que les outils moléculaires standardisés d'évaluation des communautés microbiennes disponibles constituent 3 atouts majeurs pour mettre en place une méthodologie de définition des habitats microbiens à grande échelle spatiale. L'application de méthodes d'apprentissage supervisé comme les arbres de régression multiple a permis de construire un modèle de prédiction de la composition des communautés en fonction de conditions environnementales structurantes.

En France, 16 habitats microbiens ont été identifiés, présentant chacun leur communauté et leurs conditions environnementales propres (Karimi *et al.*, en révision). Cinq facteurs environnementaux structurent ces habitats: le pH, le mode d'usage, le ratio C/N, le carbone organique du sol et la température moyenne annuelle. Les habitats se répartissent le long d'un gradient de pH et forment ainsi 5 complexes d'habitats (1- très acide, entre 3,90 et 5,01; 2- acide, entre 5,02 et 5,67; 3- légèrement acide, entre 5,68 et 6,26; 4- neutre, entre 6,27 et 7,53; 5- alcalin, entre 7,54 et 8,70) au sein desquels 1 ou 2 facteurs supplémentaires discriminent 3 ou 4 habitats. Le mode d'usage du sol, utilisé comme reflet du couvert végétal, intervient dans 4 complexes, alors que les habitats du 5^e complexe se distinguent par des ratio C/N du sol différents (4 classes avec pour seuils inférieurs et supérieurs 11,88; 15,35 et 24,58). De façon intéressante, la caractérisation sans *a priori* des habitats microbiens ne repose pas uniquement sur le couvert végétal comme le suggèrent les études assimilant les habitats microbiens aux différents biomes terrestres ou habitats phyto-sociologiques (Fierer, 2017). L'acidité du sol et l'accessibilité aux ressources nutritives constituent en effet deux des éléments structurant les plus significatifs et qui n'interviennent qu'à des niveaux très fins de la classification des habitats phyto-sociologiques (tableau 1).

La cartographie des habitats constitue une mosaïque complexe à l'échelle du territoire (figure 6). Les habitats couvrent entre 1,5 % et 13,7 % des sites échantillonnés en France métropolitaine. Alors que certains sont localisés dans des régions très précises (ex: habitat 04 restreint aux Landes de Gascogne, surface de 1,5 %), d'autres sont largement disséminés à travers le territoire, soit en grands patches (ex: habitats 15 et 16, surface de 11,5 % et 13,7 % respectivement) soit en une myriade de petits spots (ex: habitats 07, 08 et 09, surface de 4,4 %, 8,3 % et 5,5 % respectivement). Ceci suggère que malgré une

fragmentation parfois forte, les habitats microbiens peuvent tout de même être dispersés à travers tout le territoire (figure 6).

Les communautés microbiennes indigènes des différents habitats se distinguent par des niveaux de diversité variables. Alors que les habitats les plus acides ont des richesses bactériennes (en OTUs ou en genres) plus faibles, l'ensemble des habitats sous usage agricole montre les richesses les plus élevées (> 300 genres, Tableau 1), ce qui confirme le résultat précédemment trouvé au niveau du territoire (Terrat *et al.*, 2017). D'après la relation positive entre diversité et stabilité des communautés et fonctionnement des écosystèmes (Loreau *et al.*, 2001), les habitats à faible richesse devraient être plus vulnérables aux perturbations mais également les moins fertiles, les moins résistants aux pathogènes et les moins productifs (Vivant *et al.*, 2013; Maron *et al.*, 2018). Ces hypothèses sur la vulnérabilité et la faible fertilité des habitats acides sont cohérentes avec l'absence de système agricole associé à ces habitats.

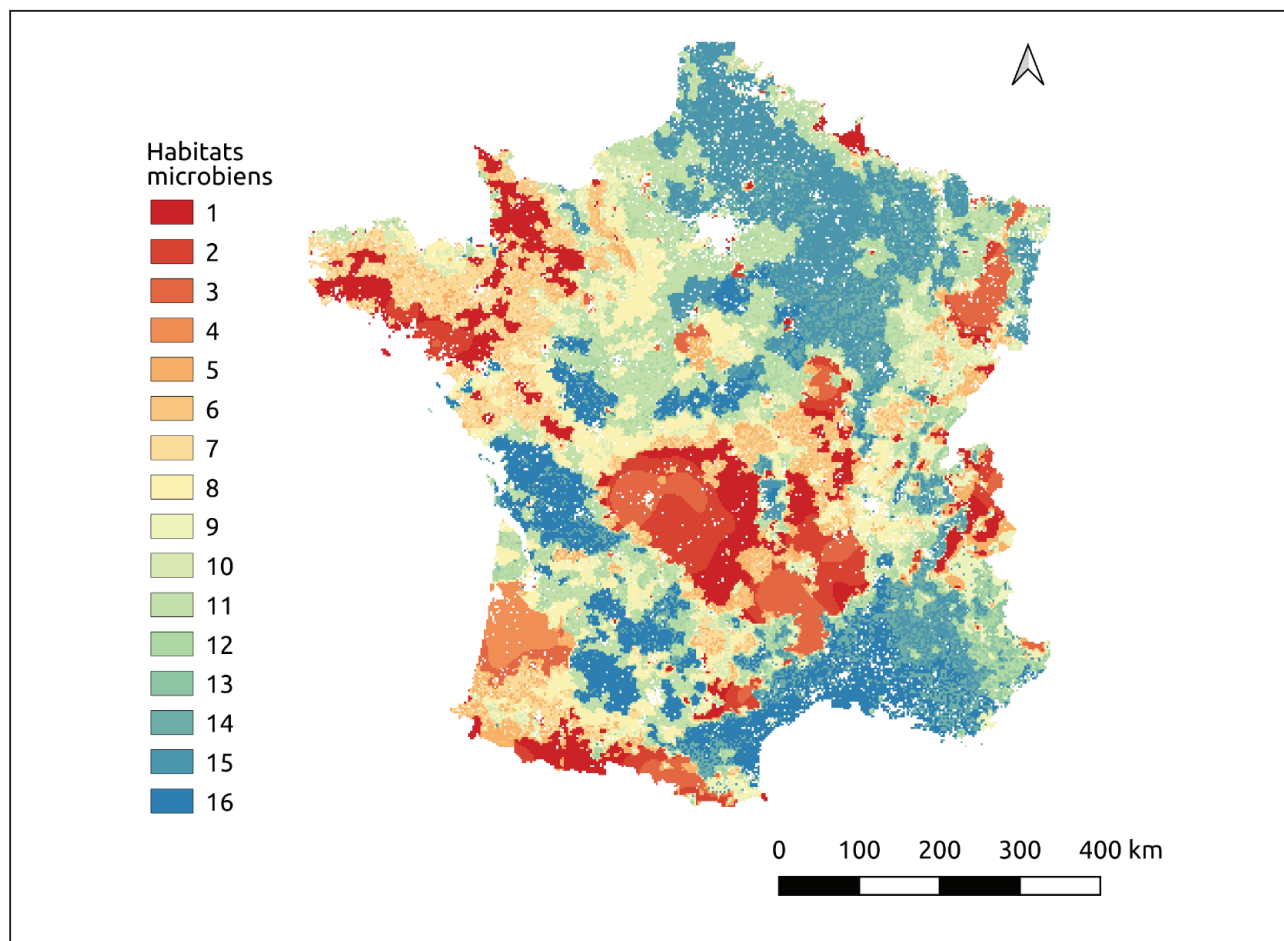
En termes de structure de communauté, malgré un pool de 130 genres généralistes partagés par tous les habitats, les habitats présentent des signatures microbiennes différentes, avec un TOP 10 des genres dominants et une biodiversité emblématique propre à chaque habitat. Seuls 2 genres, *Bacillus* et *Holophaga*, apparaissent dans le TOP 10 de la majorité des habitats; les autres ne sont dominants que dans certains habitats, parfois un seul. Cela met en évidence un gradient de cosmopolitisme au sein de la diversité microbienne du sol selon les performances démographiques et les capacités adaptatives des taxons (Büchi et Vuilleumier, 2014; Székely et Langenheder, 2014). Six habitats n'accueillent aucun taxon emblématique et les autres en abritent entre 1 et 6. Les habitats à pH neutre et alcalin sont ceux qui présentent le plus de taxons emblématiques (détectés uniquement dans un habitat, dans plus de la moitié des sites) quel que soit l'usage qui est fait du sol. Cela signifie que les politiques de conservation des habitats ne devraient pas se restreindre aux écosystèmes naturels mais devraient également inclure des systèmes anthropisés.

Afin d'avoir une évaluation complète des communautés microbiennes des habitats, les réseaux d'interactions ont été également investigués. Les 4 habitats les plus acides présentent les réseaux microbiens les plus complexes. Parmi eux, la faible dégradabilité de la matière organique du sol semble stimuler la création de liens entre les organismes, et principalement des relations de coopération (habitat 04). Un autre facteur stimulant les interactions microbiennes est la température. Il s'agit de la seule condition environnementale distinguant les habitats 15 et 16 (au seuil de 10,8°C) qui affichent respectivement 1 812 et 4 249 liens dans leur réseau. Ainsi, alors que les conditions climatiques n'impactent ni la richesse, ni les taxons présents, les réseaux d'interaction semblent être directement sous l'influence de ce paramètre global ce qui suggère des conséquences sur la stabilité et le fonctionnement des communautés microbiennes des sols (Montoya *et al.*, 2006).

Tableau 1. Caractéristiques environnementale, géographique et microbienne des 16 habitats microbiens identifiés en France métropolitaine. Le pH est indiqué par les symboles suivant : - - - pour les habitats très acides, - - pour les habitats faiblement acides, - pour les habitats neutres, + pour les habitats alcalins. Les classes de ratio C/N et de carbone organique et de température du sol sont indiqués par des - et des +. Les différents modes d'usage sont indiqués avec les abréviations suivantes : L = Landes et environnements peu anthropisés, F = Forêts, G = Prairies, C = Grandes cultures, V = Vignes. Si le paramètre ne structure pas l'habitat, le symbole ns est indiqué.

Table 1: Environmental, spatial and microbial description of the 16 microbial habitats identified across the continental France. The pH is represented by the following symbols: - - - for the most acidic habitats, - - for the medium acidic habitats, - for the slightly acidic habitats, + for the habitats with a neutral pH, + for the alkaline habitats. The classes based on the soil C:N ratio, the soil organic carbon and the temperature are indicated by - and + symbols. The land uses are referenced by the following abbreviations: L = Low anthropized environments, F = Forests, G = Grasslands, C = Crop systems, V = Vineyards. ns means that the environmental parameter is not a driver of the habitat.

Habitats	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16
pH	- - -	- - -	- - -	- - -	- -	- -	- -	-	-	-	=	=	=	+	+	+
C/N	-	=	+	++	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Mode d'usage	ns	ns	ns	ns	F,L	G	C,V	ns	G,F,L	C	G,C,V	F	L	F	L,G,C,V	L,G,C,V
C organique	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-	+	+	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Température	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-	+
Surface (%)	2.2	5.1	9.5	1.5	3.1	7.8	4.4	8.3	5.5	3.1	12.3	3.0	4.3	4.7	11.5	13.7
Localisation	ciblée	ciblée	ciblée	ciblée	large	large	large	large	large	large	large	large	large	large	large	large
Distribution	patch	patch	patch	patch	spot	spot	spot	spot	spot	spot	spot	spot	spot	patch	patch	patch
Richesse genres	295	269	244	222	300	321	346	352	330	355	365	326	337	337	358	352
Diversité emblématique	0	0	1	3	1	0	3	0	0	2	0	5	1	6	5	3
Complexité du réseau (%)	0.15	0.20	0.27	0.37	0.12	0.10	0.11	0.09	0.09	0.09	0.10	0.09	0.10	0.08	0.09	0.21
Ratio Cooperation/ Antagonisme	25	21	31	68	25	21	19	29	25	24	25	17	19	20	20	36

Figure 6 : Cartographie des habitats microbiens à l'échelle de la France.**Figure 6:** Mapping of microbial habitats at the scale of France.

Cet inventaire national des principaux habitats microbiens du sol ouvre la voie à l'intégration des habitats microbiens pour améliorer les politiques de protection et de conservation de la biodiversité, surtout dans le contexte actuel des changements globaux.

DE L'ÉCOLOGIE MICROBIENNE AU DIAGNOSTIC DE LA QUALITÉ DES SOLS

Les travaux exposés dans les sections précédentes montrent bien les avancées capitales apportées par l'analyse de l'écologie microbienne des sols du RMQS, en termes de connaissances de la distribution de l'abondance et de la diversité des communautés microbiennes à l'échelle nationale, mais aussi d'identification des filtres naturels et/ou anthropiques qui régulent ces communautés. Ces résultats ont ainsi démontré que les propriétés microbiologiques des sols ne sont pas

aléatoires, mais déterminées par le type de sol et l'usage qui en est fait. Au-delà de l'intérêt majeur de cette découverte pour la recherche fondamentale, ce déterminisme de l'abondance et de la diversité des communautés est un élément essentiel dans l'optique de développer des outils de diagnostic de la qualité du sol basés sur l'utilisation de ces mesures de biomasse moléculaire et de diversité microbienne comme indicateurs. En identifiant les paramètres explicatifs des niveaux de biomasse et de diversité, il est possible de développer des modèles mathématiques permettant de prédire les niveaux théoriques en fonction de ces paramètres et de comparer les valeurs prédites avec celles mesurées au terrain. De tels modèles représentent des outils de diagnostic puissants puisque l'écart à la valeur de référence, selon qu'il est positif ou négatif, indique qu'une pratique ou un système de culture est bénéfique ou délétère pour la qualité microbiologique du sol. Pour être robustes, ces modèles doivent être construits à partir d'un nombre important de données obtenues dans des conditions standardisées,

deux prérequis remplis par les jeux de données moléculaires constitués dans le cadre de l'analyse de l'abondance et de la biodiversité microbienne des 2 240 sols du RMQS. Dans cette section, nous évoquerons les différentes étapes qui ont été nécessaires pour standardiser les outils moléculaires et les appliquer sur l'ensemble des 2 240 sols du RMQS. Le principe de construction des modèles prédictifs sera détaillé ainsi que sa mise en œuvre pour le diagnostic de la qualité microbiologique du sol dans différents contextes agricoles.

Echantillonnage, conservation et gestion des sols

Toute mesure d'un indicateur et le développement du référentiel associé reposent sur la qualité de l'échantillonnage. Un mauvais plan d'échantillonnage peut en effet conduire à des résultats non représentatifs de l'état ou du système biologique étudié. Toute stratégie de diagnostic environnemental doit donc impérativement prendre en compte un plan d'échantillonnage rigoureux et adapté à la matrice et au système étudié. Dans le cas du RMQS, l'échantillonnage est normé. Le plan et les règles d'échantillonnage ont été définies et les procédures décrites dans le guide d'échantillonnage développé spécialement pour le projet (https://www.gissol.fr/publis/RMQS_manuel_31032006.pdf). Ceci garantit d'une part la qualité individuelle des échantillons, et plus généralement la représentativité du RMQS en termes de couverture de la diversité des sols et des modes d'usage à l'échelle du territoire national.

Au-delà de l'échantillonnage, la conservation des échantillons est primordiale pour garantir la pérennité des propriétés du sol, et donc la robustesse de tout indicateur mesuré pour en appréhender l'état. Dans le cadre du RMQS, les sols étaient initialement stockés à température ambiante après un séchage doux dans le conservatoire des sols d'INRAE d'Orléans à des fins d'archivage pour la réalisation ultérieure d'analyses de paramètres physicochimiques du sol. Ce mode de conservation est compatible avec le maintien de l'intégrité des ressources génétiques. En effet, en absence d'eau, l'ADN est préservé de la dégradation. Toutefois, pour en garantir une conservation optimale à des fins d'analyses moléculaires, une aliquote de 50 grammes de chacun des sols du RMQS a été prélevée afin d'être conservée à -40°C dans un conservatoire « image » spécialement construit en 2008 au sein de la plateforme GenoSol d'INRAE de Dijon (https://www2.dijon.inrae.fr/plateforme_genosol/), elle-même créée pour gérer cet échantillonnage unique. Ce choix des conditions de stockage à long terme des ressources génétiques microbiennes du sol a été arbitré à l'issue d'un travail approfondi de veille sur les différentes méthodologies possibles de conservation réalisé au sein de la plateforme Genosol (données non présentées).

Echantillonnage normé, conservation des sols *ad hoc* des ressources génétiques; voici réglés deux maillons essentiels

dans la chaîne technique à déployer pour développer des indicateurs robustes de la qualité des sols basés sur l'utilisation d'outils moléculaires. Reste maintenant la question de la gestion des échantillons. La gestion des 2 240 sols du RMQS et des données moléculaires associées a en effet représenté un challenge important aux origines des premiers travaux entrepris en 2006, une époque où les études d'écologie microbienne moléculaire les plus ambitieuses en termes d'échantillonnage ne portaient que sur l'analyse de quelques dizaines d'échantillons ! Le règlement de cette question a été appréhendé très tôt par le développement d'une démarche qualité assurant la traçabilité des échantillons et des données au sein de la plateforme GenoSol.

Développements et veille technologique autour des outils moléculaires de caractérisation de l'abondance et de la diversité des communautés microbiennes du sol

Quinze années se sont écoulées depuis les premières analyses moléculaires appliquées aux sols du RMQS dans le cadre du projet pionnier ECOMIC-RMQS financé par l'Agence Nationale de la Recherche (2006-2009). Cette période a vu une révolution des outils moléculaires de caractérisation des communautés microbiennes du sol, avec notamment le développement des méthodes de séquençage haut débit du métagénome du sol (Bouchez et al., 2016). Dans ce contexte, le RMQS a constitué un formidable support pour d'une part développer et assurer la veille technologique et la robustesse des outils moléculaires de pointe dans ce domaine, et d'autre part amener ces outils à un niveau d'opérationnalité permettant leur utilisation en tant que bioindicateurs de la qualité microbiologique des sols. Beaucoup de ces travaux ont été réalisés dans le cadre des programmes Bioindicateurs 1 et 2 de l'ADEME dès le début des années 2000.

Il a tout d'abord fallu optimiser la première étape, à savoir l'extraction de l'ADN du sol. Ces développements étaient destinés à optimiser la récupération de l'ADN en termes de quantité et de qualité (Plassart et al., 2012; Terrat et al., 2012). Ils ont permis d'éprouver la robustesse de la méthode et de démontrer la pertinence de la quantification de l'ADN du sol en tant qu'indicateur de l'abondance des communautés microbiennes: la biomasse moléculaire microbienne. Son application à l'ensemble des sols du RMQS a permis de construire le référentiel d'interprétation associé à cet indicateur. Ce référentiel établi en 2011 (Dequiedt et al., 2011) a été actualisé en 2016 pour prendre en compte les évolutions méthodologiques apportées par une veille technologique continue (Horrigue et al., 2016). L'indicateur « biomasse microbienne moléculaire » est aujourd'hui reconnu comme un « indicateur national sol » par l'Observatoire National

de la Biodiversité (<http://indicateurs-biodiversite.naturefrance.fr/fr/indicateurs/evolution-de-la-biomasse-microbienne-des-sols-en-metropole>).

De nombreuses évolutions méthodologiques réalisées depuis les premières analyses moléculaires des sols du RMQS en 2006 ont porté sur la caractérisation de la diversité des communautés microbiennes du sol à partir de l'ADN extrait, à savoir la détection et la quantification des taxons présents (*i.e.* OTUs pour «Unités Taxonomiques Opérationnelles»). Initialement étudiée par des approches d'empreintes moléculaires ARISA (Automatic Ribosomal Intergenic Spacer Analysis) (Dequiedt *et al.*, 2009; Ranjard *et al.*, 2013), la diversité microbienne des sols du RMQS a ensuite été appréhendée par les méthodologies nouvellement développées de séquençage haut débit du métagénome (Terrat *et al.*, 2017; Karimi *et al.*, 2018b). Ceci a impliqué, comme évoqué précédemment pour l'extraction d'ADN, un travail très important de veille technologique pour aboutir à des procédures garantissant la robustesse des données générées et de leur traitement (Terrat *et al.*, 2015; 2019). Ces développements ont été rendus possibles par une collaboration étroite avec le Genoscope, structure mondialement reconnue dans ce domaine, qui a également assuré l'analyse des 2 240 sols du RMQS permettant ainsi la construction du premier référentiel national sur la biodiversité des communautés bactériennes du sol. Robustesse technique et sensibilité éprouvées, référentiel d'interprétation construit; l'analyse de la diversité bactérienne est aujourd'hui validée comme un indicateur de la qualité du sol et reconnue par l'Observatoire National de la Biodiversité comme un « indicateur national sol » (<http://indicateurs-biodiversite.naturefrance.fr/fr/indicateurs/evolution-de-la-biodiversite-bacterienne-des-sols>).

Des modèles prédictifs de l'abondance et de la diversité microbienne pour un diagnostic de la qualité microbiologique du sol

Le développement d'indicateurs biologiques de la qualité du sol est requis pour accompagner l'évolution des pratiques dans le contexte actuel de transition agroécologique des systèmes de culture. Les indicateurs « biomasse moléculaire » et « diversité bactérienne » présentés dans la section précédente, associés à leurs référentiels d'interprétation, peuvent déjà en soit être utilisés pour établir un premier niveau de diagnostic de l'état microbiologique du sol. Toutefois, pour établir un diagnostic sur mesure pour chaque échantillon de sol, des modèles prédictifs de l'abondance d'une part et de la diversité des communautés microbiennes d'autre part ont été développés à partir des données issues du RMQS (Horrigue *et al.*, 2016; Terrat *et al.*, 2017). Ces modèles permettent de calculer pour chaque sol une valeur, dite « valeur de référence », déterminée par les propriétés physicochimiques et environnementales des sols. Il est alors possible d'établir un véritable diagnostic par comparaison

de l'écart entre cette valeur de référence unitaire et la valeur mesurée de l'indicateur.

Les étapes qui ont conduit à la construction de ces deux modèles ont consisté dans un premier temps à sélectionner les meilleures variables explicatives pour chaque indicateur. Le choix de ces variables a été effectué en 2 étapes :

- Identification des variables présentant des fortes corrélations (exemple: on trouve une forte corrélation entre les variables azote et carbone).

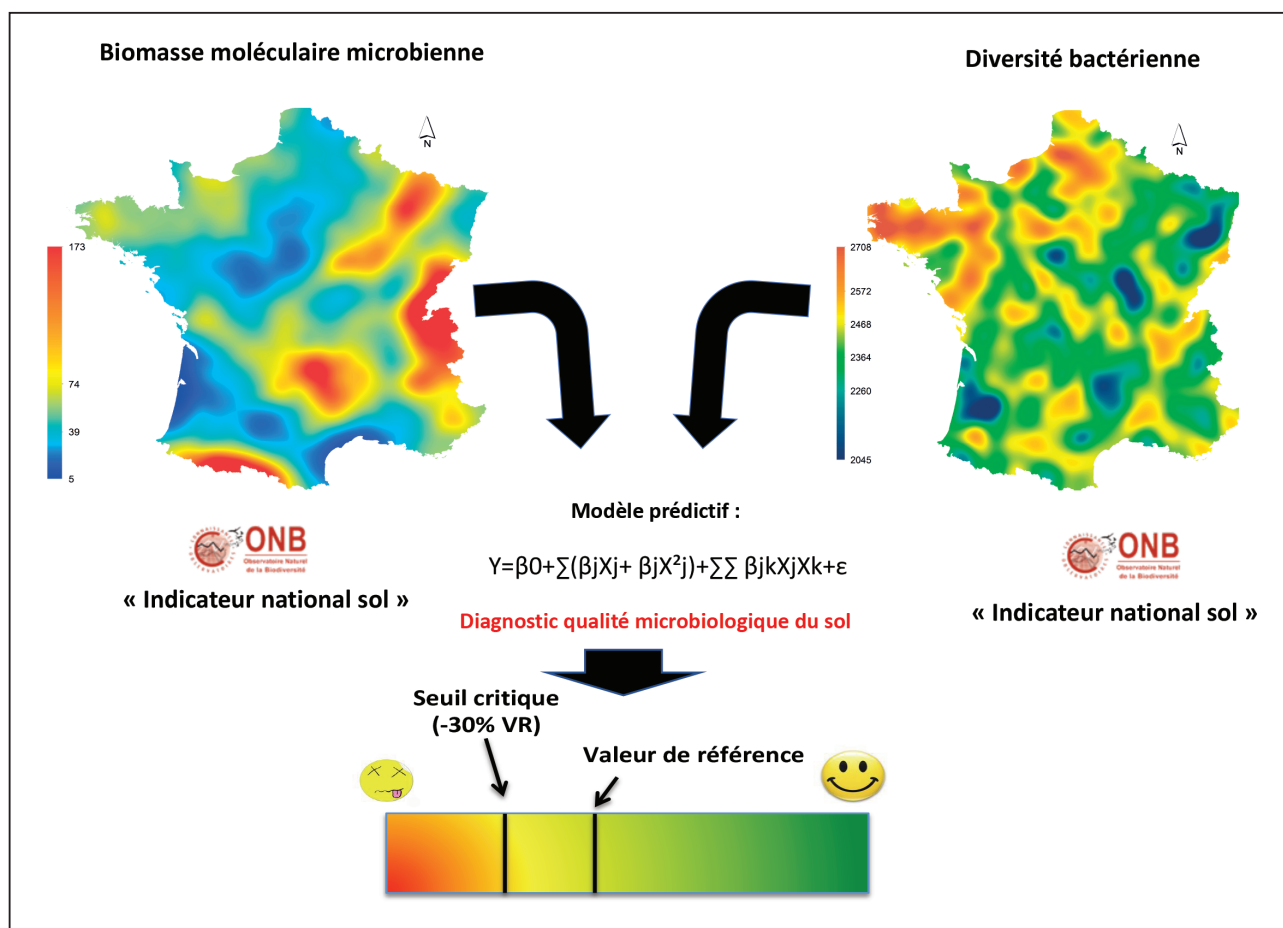
- Sélection des variables par la méthode de recherche exhaustive. Les principaux critères de choix sont les R^2 (*i.e.* coefficient de détermination), le R^2_{adj} (*i.e.* coefficient de détermination ajusté), le Cp-Mallows (*i.e.* coefficient de Mallows), l'AIC (*i.e.* Akaike Inference Criterion) et le BIC (*i.e.* Bayesian Inference Criterion). Dans un deuxième temps, différents modèles ont été étudiés: les modèles non-paramétriques (modèle additif...) et les modèles paramétriques (linéaire, non linéaire...). Les formes de modèles qui semblaient les plus intéressantes étaient les modèles polynomiaux. Pour sélectionner le meilleur modèle, une stratégie basée sur la comparaison des modèles linéaires simples à des formes polynomiales de degré croissant comprenant les interactions entre les variables explicatives a été mise en œuvre. La forme de régression polynomiale a été choisie parce qu'elle présentait l'avantage d'être facile à mettre en œuvre et flexible. Néanmoins, le degré de ce polynôme a dû être déterminé avec soin pour éviter le phénomène de sur-apprentissage. En effet, dans le cas où l'on peut avoir des erreurs de mesures, l'ajout des termes d'ordre supérieur dans un modèle conduit à un meilleur ajustement aux données, mais les prévisions peuvent être mauvaises sur de nouveaux ensembles de données. Pour exemple, le modèle finalement développé pour la biomasse microbienne est un modèle linéaire polynomiale de degré 3 et de degré 4 pour la richesse bactérienne. Pour illustration, le modèle de la biomasse s'écrit sous la forme:

$$Y = \alpha_0 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^4 \alpha_{ij} X_j^i + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^3 \sum_{k=i+1}^4 \alpha_{ijk} X_j^i X_k + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=i+1}^4 \beta_{ij} X_i X_j^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=i+1}^4 \sum_{k=i+j+1}^4 \beta_{ijk} X_i X_j X_k$$

où les X_i ($i \in \{1;2;3;4\}$) sont les variables explicatives sélectionnées (exemple pour la biomasse: X_1 =argile, X_2 =pH, X_3 =carbone organique, X_4 =altitude). La qualité des modèles a été éprouvée et testée par cross validation et analyse de sensibilité. Ces modèles se révèlent très robustes puisqu'ils prédisent avec un R^2 de 0,7 et de 0,58 pour la biomasse moléculaire et la diversité taxonomique bactérienne des sols. De plus, ils présentent une très bonne qualité d'ajustement et de prédiction.

Figure 7 : Élaboration d'indicateurs microbiens de la qualité des sols à partir du RMQS.

Figure 7: Development of microbial soil quality indicators from the RMQS.



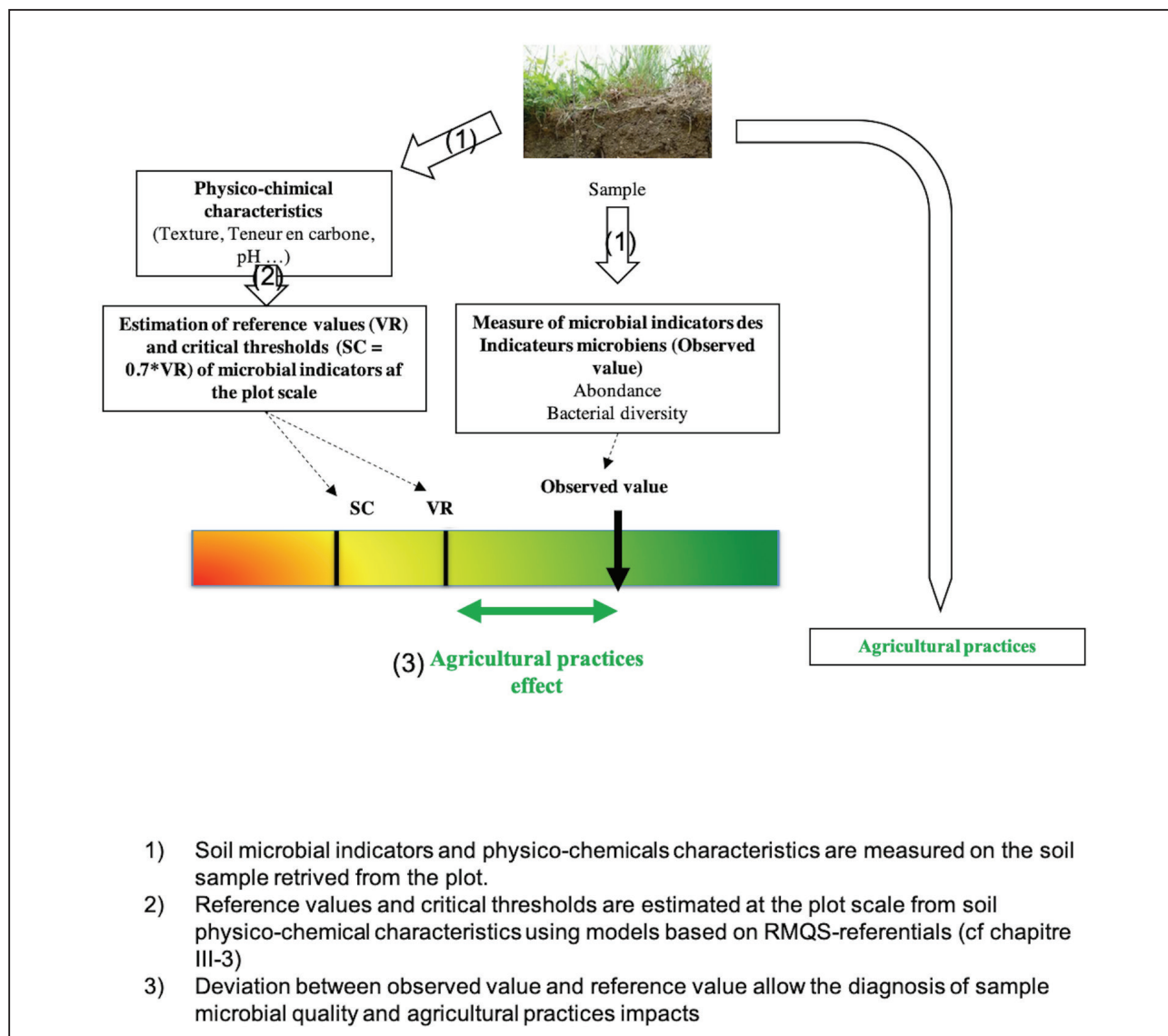
Application des bioindicateurs microbiens pour diagnostiquer la qualité des sols agricoles.

Les indicateurs microbiens construits à partir des référentiels issus du Réseau de Mesures de la Qualité des Sols ont été validés opérationnellement et ils ont pu être appliqués sur des échantillonnages existants. La zone paysagère de Fénay (Côte d'Or) a constitué un site de choix (<https://www6.dijon.inra.fr/umragroecologie/Dispositifs-et-Outils-de-Recherche/Observation-Paysagere-Fenay>). Couvrant 1 200 ha, la zone de Fénay comprend environ ¼ de zones forestières et ¾ de zones agricoles principalement conduites en système de grandes cultures avec un gradient de travail du sol (figure 8). Les deux indicateurs, biomasse moléculaire microbienne et diversité bactérienne, ont été analysés sur plus de 250 échantillons de sols prélevés de façon systématique et cartographiés (Constancias et al., 2015). Le principe du diagnostic est présenté dans l'encart 1.

À l'échelle du paysage, la biomasse moléculaire microbienne est significativement modifiée par le travail du sol (anova, $P < 0,05$), ceci indépendamment des variations de physico-chimie des sols (figure 8). Cet effet du travail du sol augmente avec la profondeur et l'intensité du travail du sol suivant un gradient: absence de travail du sol, travail du sol réduit (techniques culturales simplifiées et travail superficiel), travail profond (décompactage et labour). D'un point de vue biologique, cet effet s'explique par une modification de l'accessibilité à la ressource carbonée. En effet, en déstructurant les agrégats, le travail du sol augmente l'accessibilité à la ressource carbonée, ce qui favorise des taxons bactériens dégradant des matières labiles et ayant une dynamique de population très forte avec une croissance rapide tant que la ressource est disponible, croissance qui s'arrête dès l'épuisement de celle-ci (stratégies r). Ceci conduit à terme à une réduction de la biomasse microbienne (Lienhard et al., 2013a; Lienhard et al., 2013b). *A contrario*, des systèmes sans travail du sol (prairies et forêts) favorisent des micro-organismes

Encart 1 : Principes du diagnostic de la qualité microbiologique des sols.

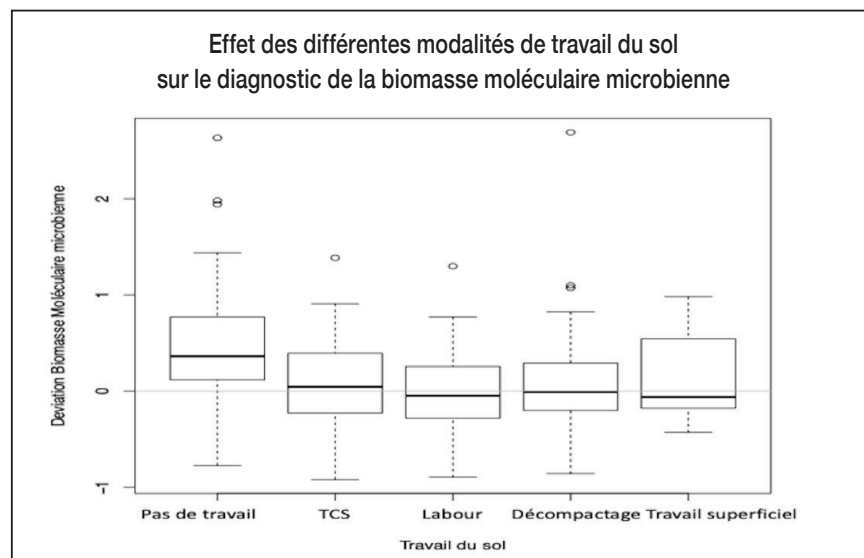
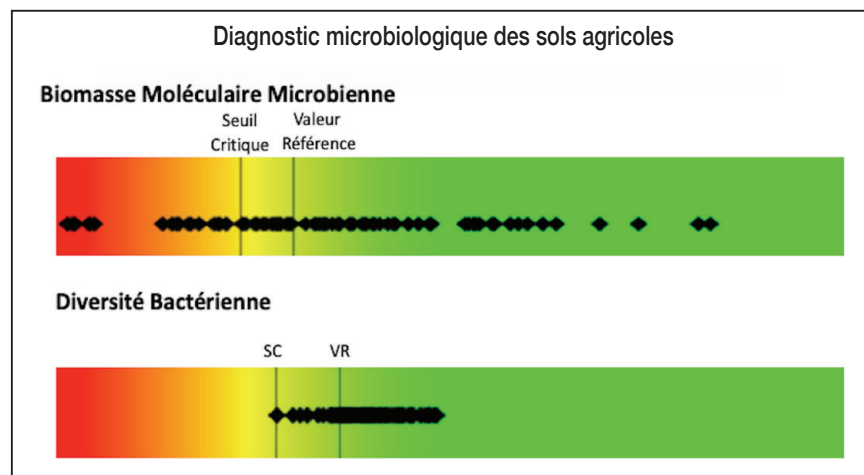
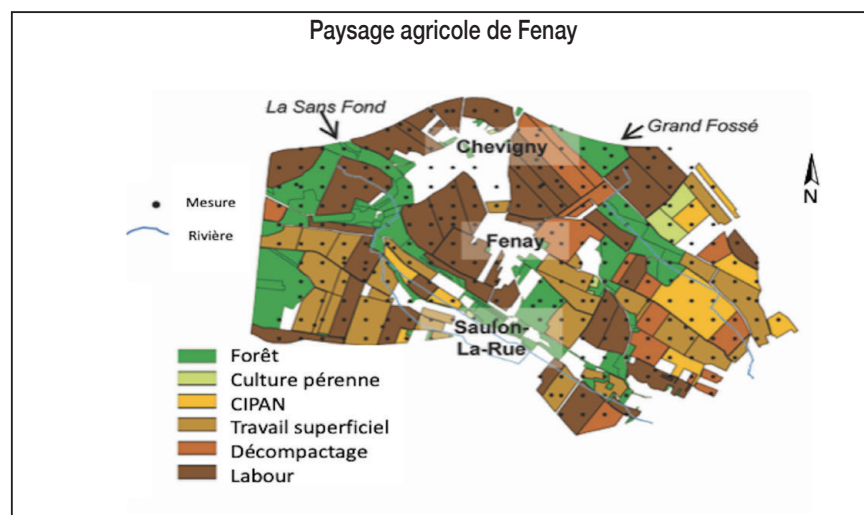
Encart 1 : Principles of Soil microbial quality diagnosis.



consommant des matières organiques plus stables, dont à croissance plus lente mais dont la dynamique de population est aussi plus stable à long terme (stratégies K) (Constancias *et al.*, 2015).

La diversité bactérienne (ici le nombre de taxons) suit un gradient inverse à la biomasse moléculaire microbienne (*figure 8*, anova, $P < 0,05$). En absence de travail du sol, la déviation entre valeur observée et valeur prédite est négative; alors qu'elle tend à se rapprocher de 0 voire à devenir positive lorsqu'un travail du sol est réalisé. Ceci laisse supposer qu'un travail du sol tend à augmenter la diversité bactérienne des sols. Cette hypothèse pourrait être liée à deux effets complémentaires. D'une part, le

travail du sol pourrait permettre d'ouvrir temporairement des niches écologiques par la déstructuration des agrégats de sols. D'autre part, cette augmentation pourrait être liée à une réduction de la compétitivité des taxons présents dans leur milieu. Cette dernière hypothèse s'appuie sur la théorie des perturbations intermédiaires dans laquelle une perturbation modérée diminue la compétitivité des organismes les plus adaptés à un environnement donné, permettant ainsi à d'autres espèces, moins adaptées au milieu initial, de s'implanter et de se développer. Un travail du sol, même superficiel, permettrait ainsi leur diversification (Terrat *et al.*, 2017). Néanmoins, cet effet positif du travail du sol est à relativiser car une partie des

Figure 8 : Application des indicateurs microbiens sur le paysage agricole de Fenay.**Figure 8:** Application of microbial indicators on the agricultural landscape of Fenay.

taxons favorisés par le travail du sol correspondent à des stratégies *r* qui ont une dynamique de populations très rapides et assez opportunistes (Lienhard et al., 2013a; Lienhard et al., 2013b).

In fine, l'application des indicateurs microbiens à l'échelle d'un paysage agricole a mis en évidence des effets contrastés du travail du sol sur les communautés microbiennes des sols. Néanmoins, ces effets du travail du sol méritent d'être étudiés en interaction avec d'autres composantes des itinéraires techniques et des systèmes de cultures notamment pour identifier différents effets compensatoires entre pratiques.

CONCLUSION

Les réseaux d'observation de sols sur de grandes échelles spatiales, lorsqu'ils sont bien menés en termes de qualité et de représentativité de l'échantillonnage, représentent des outils puissants pour la recherche et la production de connaissances. C'est le bilan que nous faisons après presque 20 ans d'investigation sur les communautés microbiennes des sols français grâce au RMQS. Même si cette approche a demandé d'énormes investissements technologiques et logistiques pour développer des outils adaptés et pour tracer les échantillons et les données associées, elle a contribué à une production de connaissances fondamentales sur l'écologie des communautés microbiennes des sols qui a permis à la recherche française de se positionner au tout premier plan au niveau mondial. En plus de la généricité apportée par des approches menées à de grandes échelles spatiales, de nouveaux concepts scientifiques sont apparus et ont été démontrés, ce qui aurait été impossible avec

des échantillonnages plus modestes et moins spatialisés. Il est possible de citer notamment la production de cartes nationales sur la microbiologie, l'étude de la relation aire-espèce ou encore la définition des habitats microbiens. Autant de connaissances qui vont au-delà de la simple valorisation académique car les résultats et outils associés aujourd'hui alimentent les politiques publiques à différents niveaux de finalisation.

Le premier niveau de finalisation correspond au besoin d'avoir des outils pour évaluer la qualité de nos sols. Les outils de microbiologie moléculaire utilisés sur le RMQS ont ainsi pu être standardisés techniquement. Ils ont aussi bénéficié de la production d'un référentiel national grâce au RMQS, ce qu'aucun autre bioindicateur ne possède à ce jour. Il en résulte que la combinaison « outil standardisé et référentiel » permet aujourd'hui de disposer d'un véritable diagnostic opérationnel de la qualité microbiologique des sols sur l'abondance et la diversité des micro-organismes. Un tel diagnostic est aujourd'hui fortement plébiscité par les usagers des sols (agriculteurs, gestionnaires d'espaces verts, gestionnaires de sites pollués...) pour évaluer l'impact de leurs pratiques. En parallèle, les laboratoires d'analyse de sols sont en train de s'approprier ce diagnostic pour le rendre encore plus disponible aux usagers et commencent même à développer l'étape suivante, qui est de fournir un conseil pour la réhabilitation des sols agricoles dégradés (projet AgroEcoSol, PIA 3 Ademe). Ces indicateurs deviennent maintenant incontournables dans de nombreuses initiatives portant sur la nécessité d'évaluer la qualité des sols dans différents contextes environnementaux et économiques.

Le deuxième niveau de finalisation correspond à la nécessité d'alimenter les politiques publiques avec des outils mais aussi avec des connaissances opérationnelles. Les indicateurs sont encore une fois un outil stratégique pour passer d'une « obligation de moyens », souvent associée à un cahier des charges environnemental, à une « obligation de résultats » qui commence à être fortement plébiscitée par les citoyens et les consommateurs *via* différents labels environnementaux. Ceci est vrai pour les sols agricoles, industriels pollués ou encore urbains avec des problématiques et des objectifs différents, mais avec le même socle commun de biodiversité et de son rôle dans la qualité de l'environnement et dans la santé publique.

Enfin, le dernier niveau de finalisation est la possibilité d'améliorer notre capacité à communiquer avec la société sur ce thème de la qualité des sols et notamment de la qualité biologique des sols. Des cartes nationales de diversité biologique à l'échelle d'un pays sont de puissants outils de communication pour sensibiliser les citoyens à cette problématique. Une des plus belles réalisations témoignant de cette sensibilisation est la parution de « l'Atlas français des bactéries du sol » (éd. Biotope) qui n'a pas d'équivalent dans le domaine et qui a connu un véritable succès pour un ouvrage

naturaliste. Tout ceci permet aussi aux citoyens d'objectiver certaines stigmatisations sur la qualité des sols agricoles et notamment celles qui n'ont pas d'ancrage dans la recherche.

PERSPECTIVES: Y-A-T-IL UNE VIE APRÈS LE RMQS ?

Si nous pouvons être satisfaits des avancées conceptuelles et méthodologiques obtenues grâce au RMQS, l'avenir est encore largement devant nous. En effet, à ce jour seules les bactéries ont été étudiées et la qualité microbiologique du sol est aussi largement due aux champignons. Ces derniers sont en cours d'analyse sur le RMQS et nous aurons les premiers résultats de la biogéographie des champignons à l'échelle de la France dès 2020. Au-delà des études sur les micro-organismes qui ont été pionnières pour montrer la faisabilité et l'intérêt de travailler sur de tels réseaux, il est aussi maintenant nécessaire d'aborder les autres compartiments de la biologie des sols et notamment ceux touchant à la faune du sol. Toujours en France, une initiative est en cours pour tester la possibilité d'adosser un volet biodiversité au Réseau de Mesures de la qualité du Sol (RMQS-Biodiversité). Ce volet va compléter les mesures déjà réalisées sur les bactéries et les champignons par de nouvelles mesures concernant les protistes, les nématodes, la mésofaune (en particulier les collemboles et les acariens), la macrofaune souterraine (notamment les vers de terre et les larves), la macrofaune de surface (coléoptères et araignées) et quelques fonctions des sols (porosité du sol, activité enzymatique et dégradation de la matière organique). La possibilité de suivre la flore et la fonge par des inventaires de sporophores sera également considérée dans cette étude. Cette initiative est financée par l'Office Français de la Biodiversité avec le soutien des autres membres du Gis Sol. Une vision intégrée de toute la biologie du sol à l'échelle nationale sera sans aucun doute une avancée majeure en écologie et aussi pour les politiques publiques de gestion des sols.

Une cartographie nationale est un outil précieux, mais si on la décline tous les 10-15 ans cela devient un outil stratégique surtout dans un contexte de changement d'usage des terres et climatique. La France sera encore une fois pionnière puisque la deuxième campagne du RMQS en métropole a été lancée en 2016 pour finir en 2027. D'ici à 7 ans, nous serons donc capables d'obtenir une carte actualisée de la qualité microbiologique des sols français, ce qui sera de nouveau une première mondiale puisque nous pourrions analyser l'évolution de l'abondance et de la diversité des communautés microbiennes à l'échelle de la France sur ces quinze dernières années en intégrant les modes d'usage et les évolutions fines du climat.

Enfin, même si le RMQS est un outil puissant, il ne couvre pas tous les sols et surtout il oublie les sols urbains car sa grille d'échantillonnage n'est pas adaptée pour les cibler. Il faut donc

maintenant réfléchir à la mise en place d'un RMQS-Urbain car les villes et les citoyens sont de plus en plus intéressés par la qualité et la biodiversité de leur sol dans un contexte de retour de la nature en ville et de services fournis par les sols pour une amélioration de la qualité de vie en ville.

REMERCIEMENTS

Depuis 20 ans nos partenaires ont été nombreux mais, le premier à nous soutenir et qui a permis d'initier ce travail est l'Ademe, dont, en particulier, Isabelle Feix. L'Ademe a toujours été présente à nos côtés et a démontré qu'elle était un partenaire qui portait une vision innovante sur les sols. Bien sûr il nous faut aussi remercier toute l'équipe d'InfoSol avec qui nous collaborons depuis le début et qui nous a permis d'accéder facilement aux données et aux échantillons du RMQS - ce qui n'aurait pas été possible sans l'équipe du conservatoire - mais surtout avec qui nous avons développé une vraie relation de recherche. Merci à eux pour ce que nous avons fait et ce que nous allons faire. A travers eux nous voulons aussi remercier toutes les équipes régionales qui ont participé aux campagnes du RMQS sur le terrain et tous les propriétaires, gestionnaires ou exploitants des sites en France qui ont permis l'accessibilité pour la mise en place de ce réseau.

Nous tenons à remercier le Genoscope qui a soutenu notre projet et qui nous permet de rester dans la course méthodologique du séquençage haut débit et de la bioinformatique, armes de recherche massive sans laquelle rien ne serait possible (du moins pour les microbes). Merci aussi au jury de France Génomique qui nous renouvelle son soutien.

Enfin, d'un point de vue plus institutionnel, nous remercions le GIS Sol, l'ANR, le conseil régional de Bourgogne Franche Comté et l'infrastructure ANAEE-France qui sont autant de soutiens importants pour que ce projet ambitieux perdure.

BIBLIOGRAPHIE

- Baas Becking, L. G. (1934). *Geobiologie of inleiding tot de milieukunde*. (V. S. W. P. & Zoon, Ed.), Blumea (The Haag).
- Baldassano, S. N. et Bassett, D. S. (2016). Topological distortion and reorganized modular structure of gut microbial co-occurrence networks in inflammatory bowel disease. *Scientific Reports*, 6(November 2015), 1–14. doi:10.1038/srep26087
- Bouchez T., Blieux A.L., Dequiedt S., Domaizon I., Dufresne A., Ferreira S., Godon J. J. Hellal, J. Joulian C., Quaiser A., Martin-Laurent F., Mauffret A., Monier J. M., Peyret P., Schmitt-Koplin P., Sibourg O., D'oiron E., Ranjard L. (2016). Molecular microbiology methods for environmental diagnosis. *Environmental Chemistry Letters*, 14(4), 423–441. doi:10.1007/s10311-016-0581-3
- Büchi L. et Vuilleumier S. (2014). Coexistence of Specialist and Generalist Species Is Shaped by Dispersal and Environmental Factors. *The American Naturalist*, 183(5), 612–624. doi:10.1086/675756
- Constancias F., Terrat S., Saby N.P.A., Horrigue W., Villerd J., Guillemin J.-P., Bijou-Duval L., Nowak V., Dequiedt S., Ranjard L., Chemidlin Prévost-Bouré N. (2015). Mapping and determinism of soil microbial community distribution across an agricultural landscape. *MicrobiologyOpen*, 4(3), 505–517. doi:10.1002/mbo3.255
- Cordero O.X. et Datta M. S. (2016). Microbial interactions and community assembly at microscales. *Current Opinion in Microbiology*, 31, 227–234. doi:10.1016/j.mib.2016.03.015
- Cuny P., Maron P., Ranjard L. (2017). *La Microbiologie moléculaire au service du diagnostic environnemental*. (ADEME, Ed.) (ADEME).
- Delmont T.O., Robe P., Clark I., Simonet P., Vogel T. M. (2011). Metagenomic comparison of direct and indirect soil DNA extraction approaches. *Journal of Microbiological Methods*, 86(3), 397–400.
- Dequiedt S., Saby N.P.A., Lelievre M., Jolivet C., Thioulouse J., Toutain B., Arrouays D., Bispo A., Lemanceau P., Ranjard L. (2011). Biogeographical patterns of soil molecular microbial biomass as influenced by soil characteristics and management. *Global Ecology and Biogeography*, 20(4), 641–652. doi:10.1111/j.1466-8238.2010.00628.x
- Dequiedt S., Thioulouse J., Jolivet C., Saby N.P.A., Lelievre M., Maron P.-A., Martin M.P., Prevost-Boure N.C., Toutain B., Arrouays D., Lemanceau P., Ranjard L. (2009). Biogeographical patterns of soil bacterial communities. *Environmental Microbiology Reports*, 1(4), 251–255. doi:10.1111/j.1758-2229.2009.00040.x
- Drakare S., Lennon J.J., Hillebrand H. (2006). The imprint of the geographical, evolutionary and ecological context on species-area relationships. *Ecology Letters*, 9(2), 215–27. doi:10.1111/j.1461-0248.2005.00848.x
- Fierer N. (2017). Embracing the unknown: Disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 15(10), 579–590. doi:10.1038/nrmicro.2017.87
- Fierer N., Bradford M.A., Jackson R.B. (2007). Toward an Ecological Classification of Soil Bacteria. *Ecology*, 88(6), 1354–1364.
- Gardi C., Montanarella L., Arrouays D., Bispo A., Lemanceau P., Jolivet C., Mulder C., Ranjard L., Roembke J., Rutgers M., Menta C. (2009). Soil biodiversity monitoring in Europe: ongoing activities and challenges. *European Journal of Soil Biology*, 60(5), 807–819. doi:10.1111/j.1365-2389.2009.01177.x
- Gleason H. A. (1922). On the Relation Between Species and Area. *Ecology*, 3(2), 158–162.
- Green J. et Bohannan B. J. M. (2006). Spatial scaling of microbial biodiversity. *Trends in Ecology and Evolution*, 21(9), 501–7. doi:10.1016/j.tree.2006.06.012
- Green J., Holmes A.J., Westoby M., Oliver I., Briscoe D., Dangerfield M., Gillings M., Beattie A.J. (2004). Spatial scaling of microbial eukaryote diversity. *Nature*, 432(7018), 747–50. doi:10.1038/nature03034
- Griffiths R., Thomson B., James P., Bell T., Bailey M., Andrew S. (2011). The bacterial biogeography of British soils. *Environ. Microbiol.* 13:1642–1654.
- Hanson C.A., Fuhrman J.A., Horner-Devine M.C., Martiny J.B.H. (2012). Beyond biogeographic patterns: Processes shaping the microbial landscape. *Nature Reviews Microbiology*, 10(7), 497–506. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2795>
- Harte J., Smith A.B., Storch D. (2009). Biodiversity scales from plots to biomes with a universal species-area curve. *Ecology Letters*, 12(8), 789–97. doi:10.1111/j.1461-0248.2009.01328.x
- Horner-Devine M.C., Lage M., Hughes J.B., Bohannan B.J.M. (2004). A taxa-area relationship for bacteria. *Nature*, 432(7018), 750–3. doi:10.1038/nature03073
- Horrigue W., Dequiedt S., Chemidlin Prévost-Bouré N., Jolivet C., Saby N.P.A., Arrouays D., Bispo A., Maron P. A., Ranjard L. (2016). Predictive model of soil molecular microbial biomass. *Ecological Indicators*, 64, 203–211. doi:10.1016/j.ecolind.2015.12.004
- Karimi B., Villerd J., Dequiedt S., Terrat S., Chemidlin Prévost-Bouré N., Djemiel C., Lelièvre M., Tripied J., Nowak V., Saby N.P.A., Bispo A., Jolivet C.,

- Arrouays D., Wincker P., Cruaud C., Ranjard L. (En révision). Biogeography of Soil Microbial Habitats *Global Ecology and Biogeography*.
- Karimi B., Dequiedt S., Terrat S., Jolivet C., Arrouays D., Wincker P., Cruaud C., Bispo A., Chemidlin Prévost-Bouré N., Ranjard L. (2019). Biogeography of Soil Bacterial Networks along a Gradient of Cropping Intensity. *Scientific Reports*, 9(1), 1–10. doi:10.1038/s41598-019-40422-y
- Karimi B., Chemidlin Prévost-Bouré N., Dequiedt S., Terrat S., Ranjard L. (2018a). Atlas Français des Bactéries du Sol. (M. Muséum national d'Histoire naturelle, Paris ; Biotopie, Ed.).
- Karimi B., Terrat S., Dequiedt S., Saby N.P.A., Horrigue W., Lelièvre M., Nowak V., Jolivet C., Arrouays D., Wincker P., Cruaud C., Bispo A., Maron P., Prévost-bouré N. C., Ranjard L. (2018b). Biogeography of soil bacteria and archaea across France. *Science Advances*, 4(eaat1808), 1–14.
- Karimi B., Maron P.A., Chemidlin Prévost Bouré N., Bernard N., Gilbert D., Ranjard L. (2017). Microbial diversity and ecological networks as indicators of environmental quality. *Environmental Chemistry Letters*, 15(2), 265–281. doi:10.1007/s10311-017-0614-6
- Lienhard P., Terrat S., Chemidlin Prévost-Bouré N., Nowak V., Régner T., Sayphoummie S., Panyasiri K., Tivet F., Mathieu O., Levêque J., Maron P.-A., Ranjard L. (2014). Pyrosequencing evidences the impact of cropping on soil bacterial and fungal diversity in Laos tropical grassland. *Agronomy for Sustainable Development*, 34(2), 525–533. doi:10.1007/s13593-013-0162-9
- Lienhard P., Terrat S., Mathieu O., Levêque J., Prévost-Bouré N.C., Nowak V., Régner T., Faivre C., Sayphoummie S., Panyasiri K., Maron PA, Ranjard, L. (2013a). Soil microbial diversity and C turnover modified by tillage and cropping in Laos tropical grassland. *Environmental Chemistry Letters*, 1–8.
- Lienhard P., Tivet F., Chabanne A., Dequiedt S., Lelièvre M., Sayphoummie S., Leudphanane B., Prevost-Boure N.C., Seguy L., Maron P.-A., Ranjard L. (2013b). No-till and cover crops shift soil microbial abundance and diversity in Laos tropical grasslands. *Agronomy for Sustainable Development*, 33(2), 375–384. doi:10.1007/s13593-012-0099-4
- Loreau M., Naeem S., Inchausti P., Bengtsson J., Grime J.P., Hector A., Hooper D.U., Huston M.A., Raffaelli D., Schmid B., Tilman D., Wardle D.A. (2001). Ecology: Biodiversity and ecosystem functioning: Current knowledge and future challenges. *Science*, 294(5543), 804–808. doi:10.1126/science.1064088
- Maron P.-A., Sarr A., Kaisermann A., Lévêque J., Mathieu O., Guigue J., Karimi B., Bernard L., Dequiedt S., Terrat S., Chabbi A., Ranjard L. (2018). High Microbial Diversity Promotes Soil Ecosystem Functioning. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(9), e02738-17. doi:10.1128/AEM.02738-17
- Maron P.-A., Mougé C., Ranjard L. (2011). Soil microbial diversity: Methodological strategy, spatial overview and functional interest. *Comptes Rendus Biologies*, 334(5–6), 403–411. doi:10.1016/j.crvi.2010.12.003
- Martiny J.B.H., Bohannan B.J.M., Brown J.H., Colwell R.K., Fuhrman J.A., Green J.L., Horner-Devine M.C., Kane M., Krumins J.A., Kuske C.R., Morin P.J., Naeem S., Ovreås L., Reysenbach A.-L., Smith V.H., Staley J.T. (2006). Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. *Nature Reviews Microbiology*, 4(February), 102–112. doi:10.1038/nrmicro1341
- Montoya J.M., Pimm S.L., Solé R.V. (2006). Ecological networks and their fragility. *Nature*, 442(7100), 259–264. doi:10.1038/nature04927
- Morrone J.J. (2000). A new regional biogeography of the Amazonian subregion, mainly based on animal taxa. *Serie Zoologia*, 71(2), 99–123.
- Pellmyr O., Leebens-Mack J. Thompson J.N. (1998). Herbivores and molecular clocks as tools in plant biogeography. *Biological Journal of the Linnean Society*, 63(3), 367–378. doi:10.1006/bjil.1997.0195
- Plassart P., Terrat S., Thomson B., Griffiths R., Dequiedt S., Lelièvre M., Regnier T., Nowak V., Bailey M., Lemanceau P., Bispo A., Chabbi A., Maron P.-A., Mougé C., Ranjard L. (2012). Evaluation of the ISO Standard 11063 DNA Extraction Procedure for Assessing Soil Microbial Abundance and Community Structure. *PLoS ONE*, 7(9), e44279. doi:10.1371/journal.pone.0044279
- Powell J.R., Karunaratne S., Campbell C.D., Yao H., Robinson L., Singh B.K. (2015). Deterministic processes vary during community assembly for ecologically dissimilar taxa. *Nature Communications*, 6, 8444. doi:10.1038/ncomms9444
- Ranjard L., Dequiedt S., Chemidlin Prévost Bouré N. C.-P., Maron P.-A., Mougé C., Lemanceau P., Jolivet C., Saby N.P.A., Martin M.P., Toutain B., Arrouays D., Thioulouse J., Fall S., Simonet P., Harmand J., Loisel P., Rapaport A., Joffre R. (2010). Biogeography of soil microbial communities: A review and a description of the ongoing french national initiative. *Agronomy for Sustainable Development*, 30(2), 359–365. doi:10.1051/agro/2009033
- Ranjard L., Dequiedt S., Chemidlin Prévost-Bouré N., Thioulouse J., Saby N.P.A., Lelièvre M., Maron P.A., Morin F.E.R., Bispo A., Jolivet C., Arrouays D., Lemanceau P. (2013). Turnover of soil bacterial diversity driven by wide-scale environmental heterogeneity. *Nature Communications*, 4, 1434. doi:10.1038/ncomms2431
- Schleuning M., Fründ J., García D. (2015). Predicting ecosystem functions from biodiversity and mutualistic networks: An extension of trait-based concepts to plant-animal interactions. *Ecography*, 38(4), 380–392. doi:10.1111/ecog.00983
- Székelly A.J. et Langenheder S. (2014). The importance of species sorting differs between habitat generalists and specialists in bacterial communities. *FEMS Microbiology Ecology*, 87(1), 102–112. doi:10.1111/1574-6941.12195
- Tecon R. et Or D. (2017). Biophysical processes supporting the diversity of microbial life in soil. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(5), 599–623. doi:10.1093/femsre/fux039
- Terrat S., Christen R., Dequiedt S., Lelièvre M., Nowak V., Regnier T., Bachar D., Plassart P., Wincker P., Jolivet C., Bispo A., Lemanceau P., Maron P.-A., Mougé C., Ranjard L. (2012). Molecular biomass and MetaTaxogenomic assessment of soil microbial communities as influenced by soil DNA extraction procedure. *Microbial Biotechnology*, 5(1), 135–141. doi:10.1111/j.1751-7915.2011.00307.x
- Terrat S., Djemiel C., Journey C., Karimi B., Dequiedt S., Horrigue W., Maron P.-A., Chemidlin Prévost-Bouré N., Ranjard L. (2019). ReClustOR : a re-clustering tool using an open-reference method that improves operational taxonomic unit definition. *Methods in Ecology and Evolution*, 00(August), 1–13. doi:10.1111/2041-210X.13316
- Terrat S., Horrigue W., Dequiedt S., Saby N.P.A., Lelièvre M., Nowak V., Tripied J., Régner T., Jolivet C., Arrouays D., Wincker P., Cruaud C., Karimi B., Bispo A., Maron P.A., Chemidlin Prévost-Bouré N., Ranjard L. (2017). Mapping and predictive variations of soil bacterial richness across France. *PLoS ONE*, 12(10), e0186766. doi:10.1371/journal.pone.0186766
- Terrat, S., Plassart, P., Bourgeois, E., Ferreira, S., Dequiedt, S., Adele-Dit-De-Renseville, N., Lemanceau, P., Bispo, A., Chabbi, A., Maron, P.-A., & Ranjard, L. (2015). Meta-barcoded evaluation of the ISO standard 11063 DNA extraction procedure to characterize soil bacterial and fungal community diversity and composition. *Microbial Biotechnology*, 8(1), 131–142. doi:10.1111/1751-7915.12162
- Vivante A.L., Garmyn D., Maron P.A., Nowak V., Piveteau P. (2013). Microbial Diversity and Structure Are Drivers of the Biological Barrier Effect against *Listeria monocytogenes* in Soil. *PLoS ONE*, 8(10), 1–11. doi:10.1371/journal.pone.0076991
- Zhou J., He Z., Yang Y., Deng Y., Tringe S.G. et Alvarez-Cohen L. (2015). High-throughput metagenomic technologies for complex microbial community analysis: open and closed formats. *MBio*, 27, 6, 1, e02288-14. doi:10.1128/mBio.02288-14
- Zinger L., Boetius A., Ramette A. (2014). Bacterial taxa-area and distance-decay relationships in marine environments. *Molecular Ecology*, 23(4), 954–64. doi:10.1111/mec.12640

