

Les protistes dans les sols

L. Palka^(1*), L. Bittner⁽²⁾, E. Lara⁽³⁾ et S. Adl⁽⁴⁾

- 1) Centre d'Ecologie et des Sciences de la Conservation (CESCO), Muséum national d'Histoire naturelle, CNRS, Sorbonne Université, CP 135, 57 rue Cuvier 75005 Paris, France
- 2) Institut de Systématique, Evolution, Biodiversité (ISYEB), Muséum national d'Histoire naturelle, CNRS, Sorbonne Université, EPHE, Université des Antilles; Institut Universitaire de France, Paris, France
- 3) Real Jardín Botánico de Madrid, Consejo Superior de Investigaciones Científicas CSIC, C/Moyano 1, 28014 Madrid, Espagne
- 4) Department of Soil Science, University of Saskatchewan, Saskatoon, Saskatchewan, S7N 5A8, Canada

* Auteur correspondant : laurent.palka@mnhn.fr

RÉSUMÉ

Depuis les années 2010, le séquençage à haut-débit a permis la multiplication des études de diversité génomique environnementale dans des milieux variés, générant des descriptions sans précédent des eucaryotes unicellulaires tels que les protistes. Aujourd'hui, les données étant au fur et à mesure croisées, des séquences génétiques appartenant à des lignées initialement considérées comme spécifiques des milieux lacustres ou marins sont retrouvées de manière récurrente dans les sols du monde entier. En conséquence, une question se pose. Les lignées de protistes des sols sont-elles strictement édaphiques ? Les données de la littérature les plus récentes montrent qu'il existe bien des communautés spécifiques des sols, indépendantes de celles des milieux aquatiques environnants. Cependant, certaines lignées majoritairement aquatiques semblent avoir réussi à coloniser les sols et à rester actives.

Mots-clés

Sol, protistes, diversité taxonomique, communautés, séquençage à haut-débit

Comment citer cet article :
Palka L., Bittner L., Lara E. et Adl S., 2022 - Les protistes dans les sols Étude et Gestion des Sols, 29, 145-151

Comment télécharger cet article :
<https://www.afes.fr/publications/revue-etude-et-gestion-des-sols/volume-29/>

Comment consulter/télécharger tous les articles de la revue EGS :
<https://www.afes.fr/publications/revue-etude-et-gestion-des-sols/>

SUMMARY
PROTISTS IN SOILS

Since the 2010s, high-throughput sequencing has allowed the multiplication of environmental genomic diversity studies in various environments, generating unprecedented descriptions of unicellular eukaryotes such as protists. Today, as the data are progressively cross-referenced, genetic sequences belonging to lineages initially considered specific to lake or marine environments are recurrently found in soils throughout the world. As a result, a question arises. Are the lineages of soil protists strictly edaphic? The most recent data in the literature show that there are indeed communities specific to soils, independent of those in the surrounding aquatic environments. However, some lineages that are mainly aquatic seem to have succeeded in colonizing soils and remaining active.

Key-words

Soil, protists, taxonomic diversity, communities, high-throughput sequencing

RESUMEN
PROTISTAS EN LOS SUELOS

Desde la década de 2010, la secuenciación de alto rendimiento ha permitido multiplicar los estudios de diversidad genómica ambiental en diversos entornos, generando descripciones sin precedentes de eucariotas unicelulares como los protistas. Hoy en día, a medida que los datos se cruzan progresivamente, las secuencias genéticas pertenecientes a linajes considerados inicialmente como específicos de entornos lacustres o marinos se encuentran de forma recurrente en suelos de todo el mundo. De ahí surge una pregunta. ¿Son los linajes de los protistas del suelo estrictamente edáficos? Los datos más recientes de la bibliografía demuestran que, efectivamente, existen comunidades específicas de los suelos, independientes de las de los medios acuáticos circundantes. Sin embargo, algunos linajes principalmente acuáticos parecen haber logrado colonizar los suelos y permanecer activos.

Palabras clave

Suelo, protistas, diversidad taxonómica, comunidades, secuenciación de alto débito

INTRODUCTION

Sur tous les continents, les eucaryotes unicellulaires ou protistes (Adl *et al.*, 2019) sont reconnus comme des acteurs-clés du fonctionnement des sols, où ils stimulent la décomposition et le recyclage de la matière organique ainsi que la nutrition des plantes au niveau de la rhizosphère (Bonkowski et Clarholm, 2012). Ils occupent également une place cruciale au sein des communautés microbiennes, animales et végétales en tant qu'hétérotrophes, et de manière de plus en plus reconnue comme phototrophes (Rønn *et al.*, 2012; Lara et Adl, 2018). Les protistes hétérotrophes se nourrissent de constituants organiques préexistants, soit par phagotrophie en ingérant des proies (procaryotes, champignons, autres protistes, nématodes), soit par osmotrophie en absorbant des nutriments à travers la membrane cellulaire (Adl, 2003). Les phagotrophes ont un mode de vie libre et les osmotrophes un mode de vie libre ou parasite. Les protistes phototrophes fabriquent leurs constituants organiques grâce à la photosynthèse. Certains ont la capacité de passer d'un métabolisme autotrophe en surface, là où il y a suffisamment de lumière, à hétérotrophe en profondeur où règne l'obscurité (Lara et Adl, 2018). C'est le cas chez les diatomées siliceuses. D'autres microalgues parmi les Stramenopiles ont perdu la phototrophie au cours de l'évolution et se nourrissent aujourd'hui par phagotrophie. Un tableau complet des modes trophiques est présenté dans Adl *et al.* (2019) supplément 2. Les protistes hétérotrophes représentent la catégorie fonctionnelle la plus commune et diversifiée quels que soient le sol et la zone géographique (Bonkowski *et al.*, 2019). Ils appartiennent en grande partie aux clades des Amoebozoa (amibes nues ou à thèques), des Cercozoa (amibes à thèques, flagellés, amoeboflagellés) et des Ciliophora (ciliés). Les Stramenopiles (flagellés dont certains sont parasites) et les Discoba (amibes, flagellés) complètent cette liste. Les phototrophes sont aussi présents, sous forme de microalgues siliceuses appartenant aux Stramenopiles comme les diatomées et de microalgues vertes se rattachant aux Archaeplastida. La présence de Dinophyceae (dont beaucoup sont mixotrophes c'est-à-dire

à la fois hétérotrophes et phototrophes) et d'Haptophyta a été également signalée (Tableau 1). Alors que les premiers ont bien été observés au microscope, rarement cependant et par des non-spécialistes (Foissner, 1991), les seconds ne l'ont jamais été, à notre connaissance, et encore moins isolés.

Bien que les connaissances sur les protistes des sols constituent un immense corpus, beaucoup d'interrogations subsistent (Geisen *et al.*, 2017). Il en est une qui émerge à mesure que des séquences génétiques de taxons, typiquement recensés par la microscopie dans les milieux d'eau douce et/ou marins, sont signalées dans les sols du monde entier (Tableau 1). Les lignées présentes dans les sols sont-elles strictement édaphiques ? Seule une espèce de Foraminifera caractérisée par un test, non pas calcaire et rigide comme dans le milieu marin, mais membraneux et flexible, a été isolée d'un humus forestier en Australie et décrite morphologiquement par Meisterfeld *et al.* (2001). Des séquences de radiolaires, taxon typiquement marin, ont été mentionnées récemment dans les sols par Singer *et al.* (2021) mais proviennent vraisemblablement de mauvaises annotations dans la base de données de séquences de références sur les protistes PR² (Guillou *et al.*, 2013).

La présence de taxons d'eau douce et/ou marins dans les sols rappelle l'hypothèse de Rønn *et al.* (2012) selon laquelle les protistes seraient fondamentalement des « aquatic creatures visiting a terrestrial world », autrement dit des visiteurs de passage. Aussi réductrice soit-elle, cette vision mérite d'être questionnée sachant que : 1) les protistes des sols ne peuvent être actifs qu'en présence d'eau liquide ; 2) les précipitations se placent au premier rang des conditions environnementales qui affectent leur activité, devant la température, le pH et le carbone (Oliverio *et al.*, 2020) ; 3) l'enkystement, qui transforme les formes actives en structures coccoïdes résistantes appelées kystes, est une adaptation aux changements des conditions environnementales (Gutierrez *et al.*, 2001 ; Ekelund *et al.*, 2002). Cette hypothèse doit être également discutée car considérer les protistes des sols comme des « visiteurs » sous-entend que le sol serait pour eux un habitat accidentel. Si cela se confirmait

Tableau 1 - Principaux protistes typiquement lacustres ou/et marins recensés dans les sols par les techniques de séquençage.

Table 1 - Main protists typically found in soils by sequencing techniques.

Taxons	Modes de vie, morphotypes	Références
Foraminifera (Rhizaria)	libre, amoeboïde à test et loges, quelques fois sans	2, 5, 8
Centrohelioczoa (Haptista)	libre, flagellé - exosquelette à symétrie rayonnante	7, 8
Haptophyta (Haptista)	libre, flagellé - exosquelette	6, 7, 8
Jakobida (Excavata)	libre, flagellé	4, 7
Choanoflagellida (Opisthokonta)	libre, flagellé	2, 3, 6, 7, 8, 9
Dinophyceae (Alveolata)	libre ou parasite, flagellé - exosquelette	1, 2, 6, 7
Perkinsea (Alveolata)	parasite, flagellé - conoïde	6

(1) Bates *et al.* (2013), (2) Geisen *et al.* (2015), (3) Ekelund *et al.* (1997), (4) Lara *et al.* (2006), (5) Lejzerowicz *et al.* (2010), (6) Mahé *et al.* (2017), (7) Sieber *et al.* (2020), (8) Singer *et al.* (2021), (9) Urik *et al.* (2008).

notre compréhension de l'influence et du rôle de ces micro-organismes dans les écosystèmes terrestres pourrait en être modifiée.

L'article présenté ici propose donc de vérifier si les communautés de protistes des sols diffèrent ou non de celles des milieux aquatiques (surtout les lacs). Nous examinons dans la littérature les découvertes taxonomiques les plus récentes issues de la diversité génomique environnementale et du séquençage à haut-débit, tout en montrant les limites ou les biais de cette technique.

UNE VISION À HAUT-DÉBIT DES COMMUNAUTÉS

L'identification des morphotypes, à l'exception de la plupart des kystes, est réalisable au microscope optique ou électronique et permet de caractériser superficiellement les communautés de protistes. Cependant, l'étude des traits morphologiques peut s'avérer chronophage et la précision taxonomique atteinte reste limitée. Par conséquent, le nombre d'échantillons raisonnablement utilisables est restreint, ce qui rend difficile la réalisation d'études biogéographiques ou écologiques à grande échelle. C'est pourquoi les techniques moléculaires appliquées à l'étude de la diversité environnementale d'eucaryotes (= « métabarcoding ») sont si importantes en protistologie. Cette approche consiste à extraire la totalité de l'ADN présent dans un environnement donné (par exemple un sol) puis à amplifier par PCR un marqueur ou « barcode », situé pour les protistes dans une région hypervariable du gène codant pour la petite sous-unité des ribosomes (ARN 18S). Un tableau complet des amorces et de leurs performances respectives est présenté dans Adl *et al.* (2019) et Vaulot *et al.* (2022). Pour chaque échantillon de sol, des millions de séquences génétiques sont ainsi générées. On parle de lectures ou encore de *reads*. Elles sont ensuite nettoyées, triées et analysées soit telles quelles, soit regroupées en fonction de leur similarité en unités taxonomiques opérationnelles (OTUs). Les séquences obtenues sont alors comparées à des bases de données d'accès public comme PR² ou SILVA. Les séquences de référence qui composent ces bases de données proviennent soit de cultures, soit d'individus isolés qui ont été identifiés au préalable à partir de leur phénotype. Ainsi, les communautés peuvent être caractérisées dans un laps de temps relativement court, à partir d'un grand nombre d'échantillons et pour différents écosystèmes.

Cette technique comporte cependant des limites ou des biais dont il faut avoir conscience pour interpréter correctement les résultats. Lorsqu'un barcode est appliqué sur l'ADN, rien ne dit si les protistes correspondants sont actifs, enkystés ou même

s'ils sont viables¹. Par ailleurs, l'ensemble des barcodes utilisés ne permet pas d'identifier la plupart des protistes au niveau de l'espèce, car le gène qui code pour l'ARN 18S n'est pas suffisamment variable (Geisen *et al.*, 2019; Lara *et al.*, 2020). Certaines lignées restent difficilement amplifiables et ce, quels que soient les milieux (Egge *et al.*, 2013; Bittner *et al.*, 2013). Enfin, la plupart des estimations de diversité pourraient être largement sous-estimées chez les Amoebozoa, en raison de longues séquences d'ARN 18S. À l'inverse, elles pourraient être surestimées chez les ciliés du fait d'un nombre extrêmement élevé de copies du gène d'ARN 18S (Geisen *et al.*, 2019). Malgré tout, rechercher la diversité moléculaire donne une image beaucoup plus précise des communautés que les études morphologiques et permet de suivre les éventuels transferts entre les différents écosystèmes, notamment entre les milieux aquatiques et les sols.

DES LIGNÉES SPÉCIFIQUES DES SOLS

Sieber *et al.* (2020) ont recherché s'il existait des transferts de taxons entre les milieux aquatiques et terrestres, mis à part les zones naturellement inondables. Ils ont comparé les OTUs issus de 30 lacs répartis à travers toute l'Allemagne, avec ceux des sols situés à 50 mètres de chaque lac. Les prélèvements ont été effectués jusqu'à un mètre de profondeur dans les lacs, et dans les cinq premiers centimètres des sols. Sur un total de 33745 OTUs, 55,5 % ont été trouvés exclusivement dans les sols et seulement 2 % étaient communs aux deux milieux. Ces auteurs ont donc montré que les transferts de taxons entre les lacs et les sols étaient très limités et que la composition des communautés était en grande partie distincte. Cette conclusion va dans le sens de González-Miguéns *et al.* (2021) qui ont mis en évidence des lignées d'amibes à thèque de la famille des Arcellidae (Amoebozoa) vivant exclusivement dans les sols et d'autres strictement aquatiques. Enfin, pour Singer *et al.* (2021), si un recouvrement entre les communautés de protistes des sols et des lacs existe, celui-ci reste faible, et quasiment inexistant entre les sols et les milieux marins. Que se passe-t-il en zone inondable ? Graupner *et al.* (2017) ont abordé la question en mésocosme où ils ont simulé les effets d'une inondation de courte durée avec de l'eau de rivière sur du sol de prairie. Cette simulation a affecté avant tout les communautés aquatiques et très peu celles du sol; dans cette expérience, environ 50 taxa furent transférés du sol vers l'eau de rivière.

Il n'est pas surprenant que les sols comportent des communautés en grande partie distinctes de celles des eaux douces ou marines, notamment du fait du gradient de salinité (Adl, 2003; Jamy *et al.*, 2021). En effet, la salinité naturelle

¹ Dans une expérience consistant à colorer à l'éosine des kystes d'une culture de *Colpoda ecaudata*, une espèce de ciliés *Colpodea* très commune dans les sols, près de 15 % n'étaient pas colorés et donc non viables (non publié).

des sols se place entre celle des eaux douces et marines et les protistes sont capables d'ajuster l'osmolarité de leur cytoplasme aux conditions ambiantes mais jusqu'à un certain point. La granulométrie et la structure des sols doivent avoir aussi un impact. En effet, les communautés édaphiques sont dominées par des protistes capables de se nourrir entre les agrégats grâce à leurs pseudopodes comme les Amoebozoa et certains Cercozoa (Oliverio *et al.*, 2020 ; Singer *et al.*, 2021). Les protistes amoeboïdes ont donc un avantage sélectif. Les Ciliophora opportunistes de la classe des Colpodea ainsi que les Spirotrichea possèdent aussi des caractéristiques avantageuses dans les sols. Par exemple chez les Colpodea, le genre *Colpoda* se divise en donnant au minimum quatre cellules-filles. La croissance des populations suit donc une courbe exponentielle dès que les conditions favorables se présentent. Cette stratégie est favorable dans les sols où l'eau est disponible seulement sporadiquement, et où les ressources doivent être exploitées rapidement. Chez les Spirotrichea, les cils groupés en paquets sur la face ventrale, appelés cirres, permettent aux ciliés de se mouvoir et se nourrir à la surface des agrégats.

LES LIGNÉES PRÉSENTES VERSUS LES LIGNÉES ACTIVES

Dans les sols, les lignées phagotrophes constituent en général les trois quarts des communautés. Cependant, les parasites comme les Apicomplexa peuvent être aussi très abondants en forêts tropicales (Mahé *et al.*, 2017) et dans une moindre mesure, dans les sols des Alpes (Singer *et al.*, 2020). La présence des Apicomplexa, et en particulier des grégarines, serait liée à celle de leurs hôtes (arthropodes et annélides). Les lignées mixotrophes ou phototrophes sont les moins représentées, mais leur importance en tant que « capteurs » de carbone atmosphérique est de plus en plus reconnue (Seppey *et al.*, 2017 ; Hamard *et al.*, 2021 ; Jassey *et al.*, 2022).

Si les protistes phagotrophes dominent les communautés édaphiques, sont-ils pour autant sous forme active ? La question se pose car d'après les études morphologiques, la majeure partie serait enkystée (Ekelund *et al.*, 2002). Ce phénomène avait d'ailleurs amené Wilhelm Foissner à proposer dès 1987 le terme « ciliatostase » pour traduire la prédominance des kystes chez les ciliés des sols (Petz et Foissner, 1988). Même si tous les kystes ne sont sans doute pas viables, la majeure partie permet à la population d'être résiliente lorsque se produit un événement défavorable comme le dessèchement, le manque de nourriture, un changement de température, l'apparition de molécules toxiques, voire une irradiation (Saito *et al.*, 2020). Ainsi, des organismes ayant des optima écologiques divergents peuvent cohabiter en dormance, chacun s'activant quand les conditions deviennent favorables (Velasco-González *et al.*, 2020). Dans les sols, s'enkyster est donc clairement un avantage. Cependant,

l'enkystement n'est pas caractéristique du sol : d'une part, parce qu'il est fréquent aussi chez les protistes aquatiques (Lundholm *et al.*, 2011) ; d'autre part, beaucoup de ciliés édaphiques en forêts tropicales humides ont perdu cette capacité (Foissner, 1997).

Quelles sont les lignées actives dans les sols ? Cette question est primordiale pour comprendre le fonctionnement des communautés. Elle l'est également pour savoir si les taxons caractéristiques des milieux aquatiques signalés dans les sols (Tableau 1) jouent un rôle. Il est possible d'y répondre en ciblant non plus l'ADN mais l'ARN messager (Urich *et al.*, 2008). En effet, l'ARNm est issu de la transcription et reflète par conséquent une activité métabolique. C'est par cette technique que Geisen *et al.* (2015) ont identifié les communautés actives d'un sol de prairie en Angleterre, d'une forêt de hêtres en Autriche, et de deux tourbières de l'Arctique. Les OTUs correspondant à l'ARNm étaient dominées dans la prairie et la hêtraie par : 1) les Rhizaria (entre 40 et 50 %) dont les Cercozoa, 2) les Amoebozoa (entre 20 et 30 %) ; et 3) les Stramenopiles (entre 4 et 10 %). Par contre, dans les tourbières, les OTUs étaient plutôt représentées par : 1) les Alveolata c'est-à-dire les Ciliophora, Dinophyceae et Apicomplexa (entre 40 et 60 %) ; 2) les Rhizaria (entre 11 et 17 %) ; et 3) les Amoebozoa (8 et 11 %). Geisen *et al.* (2015) ont montré très peu d'OTUs de Foraminifera : au maximum 4 % dans une des deux tourbières, 2 % dans le sol de prairie et 1 % dans le sol forestier. Idem pour les Choanoflagellida qui composaient moins de 1 % des communautés quel que soit le sol. Ainsi, même s'ils sont peu représentés, certains protistes typiquement aquatiques semblent être actifs, ce qui va dans le sens de Ekelund et Patterson (1997) qui avaient observé des choanoflagellés animés dans un sol de jardin. En revanche, pour ce qui concerne les Dinophyceae, les OTUs proviendraient plutôt de l'ADN de kystes d'origine aquatique, si l'on se réfère à Gottschling *et al.* (2020).

CONCLUSION

La littérature la plus récente montre que la plupart des protistes présents dans les sols sont typiquement édaphiques et ne sont pas des « visiteurs ». La composition des communautés est indépendante des milieux aquatiques environnants, même en cas d'inondation. Enfin, il est acquis que certaines lignées d'origine aquatique ont réussi à coloniser les sols et s'y adapter. Il reste à les isoler, les cultiver et les observer en microscopie pour révéler leurs phénotypes. Sur le plan moléculaire, l'intérêt de cibler l'ARNm n'est plus à démontrer mais les données s'y rapportant ne sont pas encore suffisantes. De plus, la technique implique des analyses lourdes, coûteuses et le nombre de séquences d'eucaryotes dans les bases de données de référence est très limité. C'est pourquoi le métabarcoding basé sur l'ADN apparaît comme la seule technique disponible

actuellement pour étudier la macro-écologie des protistes des sols. Comme le disent Adl *et al.* (2019), les sols nous réservent encore bien des surprises.

REMERCIEMENTS

Les auteur(e)s remercient les deux relecteurs pour leurs remarques constructives qui ont amélioré le manuscrit.

BIBLIOGRAPHIE

- Adl M.S., 2003 - The ecology of soil decomposition, CAB International, UK, pp. 335.
- Adl M.S., Bass D., Lane C.E., Luke J., Schoch C.L., Smirnov A., Agatha S., Berney C., Brown M.W., Burki F., Cardenas P., Cepicka I., Chistyakova L., Campo J.D., Dunthorn M., Edvardsen B., Eglit Y., Guillou L., Hapl V., Heiss A.A., Hoppenrath M., James T.J., Karnkowska A., Karpov S., Kim E., Kolisko M., Kudryavtsev A., Lahr D.J.G., Lara E., Le Gall L., Lynn D.H., Mann D.G., Massana R., Mitchell E.A.D., Morrow C., Park J.S., Pawlowski J.W., Powell M.J., Richter D.J., Rueckert S., Shadwick L., Shimano S., Spiegel F.W., Torruella G., Youssef N., Zlatogursky V., Zhang Q., 2019 - Revisions to the Classification, Nomenclature, and Diversity of Eukaryotes. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 66, pp. 4-119.
- Bates S.T., Clemente J.C., Flores G.E., Walters W.A., Parfrey L.W., Knight R., Fierer N., 2013 - Global biogeography of highly diverse protistan communities in soil. *ISME J.*, 7, pp. 652-659.
- Bittner L., Gobet A., Audic S., Romac S., Egge E., Santini S., Ogata H., Probert I., Edvardsen B., de Vargas C., 2013 - Diversity Patterns of Uncultured Haptophytes Unravelling by Pyrosequencing in Naples Bay. *Mol. Ecol.* 22 (1), pp. 87101. <https://doi.org/10.1111/mec.12108>.
- Bonkowski M., Clarholm M., 2012 - Stimulation of Plant Growth through Interactions of Bacteria and Protozoa: Testing the Auxiliary Microbial Loop Hypothesis. *Acta Protozool.*, 51, pp. 237-247.
- Bonkowski M., Dumack K., Fiore-Donno A.M., 2019 - The protists in soil – a token of untold eukaryotic diversity, in *Modern Soil Microbiology*, eds J.D. van Elsland, J.T. Trevors, A. Soares Rosado, and P. Nannipieri (Boca Raton, FL: CRC Press), pp. 125-140.
- Egge E., Bittner L., Andersen T., Audic S., de Vargas C., Edvardsen B., 2013 - 454 Pyrosequencing to Describe Microbial Eukaryotic Community Composition, Diversity and Relative Abundance: A test for Marine Haptophytes. *PLoS ONE*, 8 (9), e74371.
- Ekelund F., Patterson D.J., 1997 - Some Heterotrophic Flagellates from a Cultivated Garden Soil in Australia. *Archiv für Protistenkunde*, 148, pp. 461-478.
- Ekelund F., Frederiksen H.B., Rønn R., 2002 - Population Dynamics of Active and Total Ciliate Populations in Arable Soil Amended with Wheat. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68 (3), pp. 1096-1101.
- Foissner W., 1991 - Diversity and Ecology of Soil Flagellates, in: Patterson, D.J., Larsen, J. (Ed.), *The Biology of Free-living Heterotrophic Flagellates*. Clarendon Press, Oxford, pp. 93-112.
- Foissner W., 1997 - Soil ciliates (Protozoa: Ciliophora) from evergreen rain forests of Australia, South America and Costa Rica: diversity and description of new species. *Biol. Fertil. Soils*, 25, pp. 317-339.
- Geisen S., Tveit A.T., Clark I.M., Richter A., Svenning M.M., Bonkowski M., Ulrich T., 2015 - Metatranscriptomic census of active protists in soils. *ISME J.*, 9, pp. 2178-2190.
- Geisen S., Mitchell E.A.D., Wilkinson D.M., Adl S., Bonkowski M., Brown M.W., Fiore-Donno A.M., Heger T.J., Jassey V.E.J., Krashevska V., Lahr D.J.G., Marcisz K., Mulot M., Payne R., Singer D., Anderson O.R., Charman D.J., Ekelund F., Griffiths B.S., Rønn R., Smirnov A., Bass D., Belbahri L., Berney C., Blandinier Q., Chatzinotas A., Clarholm M., Dunthorn M., Feest A., Fernandez L.D., Foissner W., Fournier B., Gentekaki E., Hajek M., Helder J., Jousset A., Koller R., Kumar S., La Terza A., Lamentowicz M., Mazei Y., Santos S.S., Seppey C.V.W., Spiegel F.W., Walochnik J., Winding A., Lara E., 2017 - Soil protistology rebooted: 30 fundamental questions to start with. *Soil. Biol. Biochem.*, 111, pp. 94-103.
- Geisen S., Vulot D., Mahé F., Lara E., de Vargas C., Bass D., 2019 - A user guide to environmental protistology: primers, metabarcoding, sequencing, and analyses. *bioRxiv*, DOI: 10.1101/850610.
- González-Miguéns R., Soler-Zamora C., Villar-Depablo M., Todorov M., Lara E., 2021 - Multiple convergences in the evolutionary history of the testate amoeba family Arcellidae (Amoebozoa: Arcellinida: Sphaerothecina): when the ecology rules the morphology. *Zoological Journal of the Linnean Society*, zlab074, <https://doi.org/10.1093/zoolin/zlab074>.
- Gottschling M., Czech L., Mahé F., Adl S., Dunthorn M., 2020 - The Windblown: Possible Explanations for Dinophyte DNA in Forest Soils. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 68, e12833.
- Graupner N., Röhl O., Jensen M., Beisser D., Begerow D., Boenigk J., 2017 - Effects of short-term flooding on aquatic and terrestrial microeukaryotic communities: a mesocosm approach. *Aquat. Microb. Ecol.*, 80, pp. 257-272.
- Guillou L., Bachar D., Audic S., Bass D., Berney C., Bittner L., Boutte C., Burgaud G., de Vargas C., Decelle J., del Campo J., Dolan J.R., Dunthorn M., Edvardsen B., Holzmann M., Kooistra W.H.C.F., Lara E., Le Becot N., Logares R., Mahé F., Massana R., Montresor M., Morard R., Not F., Pawlowski J., Probert I., Sauvadet A.L., Siano R., Stoock T., Vulot D., Zimmermann P., Christen R., 2013 - The Protist Ribosomal Reference database (PR²): a catalog of unicellular eukaryote Small Sub-Unit rRNA sequences with curated taxonomy. *Nucleic Acids Res.*, 41 (D1), pp. D597-D604.
- Gutierrez J.C., Callejas S., Borniquel S., Benitez L., Martin-Gonzalez A., 2001 - Ciliate cryptobiosis: a microbial strategy against environmental starvation. *Int. Microbiol.*, 4, pp. 151-157.
- Hamard S., Céréghino R., Barret M., Sytiuk A., Lara E., Dorrepaal E., Kardol P., Kütting M., Lamentowicz M., Leflaive J., Le Roux G., Tuittila E.S., Jassey V.E.J., 2021 - Contribution of microbial photosynthesis to peatland carbon uptake along a latitudinal gradient. *J. Ecol.*, 109, pp. 3424-3441.
- Holzmann M., Gooday A.J., Siemensma F., Pawlowski J., 2021 - Review: Freshwater and soil Foraminifera - a story of long-forgotten relatives. *J. Foraminiferal Res.*, 51 (4), pp. 318-331.
- Jamy M., Biwer C., Vulot D., Obiol A., Jing H., Peura S., Massana R., Burki F., 2021 - Global patterns and rates of habitats transitions across the eukaryotic tree of life. *bioRxiv*, DOI: <https://doi.org/10.1101/2021.11.01.466765>.
- Jassey V.E.J., Walcker R., Kardol P., Geisen S., Heger T., Lamentowicz M., Hamard S., Lara E., 2022 - Contribution of soil algae to the global carbon cycle. *New Phytologist*, 234, pp. 64-76.
- Lara E., Chatzinotas A., Simpson A.G.B., 2006 - *Andalucia* (n. Gen.) - the deepest branch within jakobids (Jakobida; Excavata), based on morphological and molecular study of a new flagellate from soil. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 53, pp. 112-120.
- Lara E., Adl S., 2018 - La diversité des protistes dans le sol, in *Microbiodiversité: un nouveau regard*, Editions Matériologistes, sous la direction de L. Palka, pp. 239-251.
- Lara E., Dumack K., García-Martín J.M., Kudryavtsev A., Kosakyan A., 2020 - Amoeboid protist systematics: A report on the "Systematics of amoeboid protists" symposium at the VIIIth ECOP/ISOP meeting in Rome, 2019. *Eur. J. Protistol.*, 76, 125727.

- Lejzerowicz F., Pawlowski J., Fraissinet-Tachet L., Marmeisse R., 2010 - Molecular evidence for widespread occurrence of Foraminifera in soils. *Environ. Microbiol.*, 12, pp. 2518-2525.
- Lundholm N., Ribeiro S., Andersen T.J., Koch T., Godhe A., Ekelund F., Ellegaard M., 2011 - Buried alive - Germination of up to a century-old marine protist resting stages. *Phycologia*, 50, pp. 629-640.
- Mahé F., de Vargas C., Bass D., Czech L., Stamatakis A., Lara E., Singer D., Mayor J., Bunge J., Sernaker S., Siemensemeyer T., Trautmann I., Romac S., Berney C., Kozlov A., Mitchell E.A.D., Seppey C.V.W., Egge E., Lentendu G., Wirth R., Trueba G., Dunthorn M., 2016 - Soil Protists in Three Neotropical Rainforests are Hyperdiverse and Dominated by Parasites. *bioRxiv*, DOI: 10.1101/050997.
- Meisterfeld R., Holzmann M., Pawlowski J.A.N., 2001 - Morphological and Molecular Characterization of a New Terrestrial Allogromiid Species: *Edaphoallogromia australica* gen. et spec. nov. (Foraminifera) from Northern Queensland (Australia). *Protist*, 152, pp. 185-192.
- Oliverio A.M., Geisen S., Delgado-Baquerizo M., Maestre F.T., Turner B.L., Fierer N., 2020 - The global-scale distributions of soil protists and their contributions to belowground systems. *Sci. Adv.*, 6, eaax8787.
- Petz W., Foissner W., 1988 - Spatial Separation of Terrestrial Ciliates and Testaceans (Protozoa): a Contribution to Soil Ciliatostasis. *Acta Protozool.*, 27 (3/4), pp. 249-258.
- Rønn R., Vestergard M., Ekelund F., 2012) Interactions between Bacteria, Protozoa and Nematodes in Soil. *Acta Protozool.*, 51, pp. 223-235.
- Saito R., Koizumi R., Sakai T., Shimizu T., Ono T., Wanner M. Takyu T., Tanaka T., Sogame Y., 2020 - Recovery of proliferative capability in gamma irradiated *Colpoda cucullus* (ciliated protist) resting cysts and its radiation hormesis. *Protistology*, 14 (3), pp. 160-171.
- Seppey C.V.W., Singer D., Dumack K., Fournier B., Belbahri L., Mitchell E.A.D., Lara E., 2017 - Distribution patterns of soil microbial eukaryotes suggests widespread algivory by phagotrophic protists as an alternative pathway for nutrient cycling. *Soil Biol. Biochem.*, 112, pp. 68-76.
- Sieber G., Beisser D., Boenigk J., 2020 - Protistan and fungal diversity in soils and freshwater lakes are substantially different. *Scientific Reports*, 10, 20025.
- Singer D., Duckert C., Heděnc P., Lara E., Hiltbrunner E., Mitchell E.A.D., 2020 - High-throughput sequencing of litter and moss eDNA reveals a positive correlation between the diversity of Apicomplexa and their invertebrate hosts across alpine habitats. *Soil Biol. Biochem.*, 147, 107837.
- Singer D., Seppey C.V.W., Lentendu G., Dunthorn M., Bass D., Belbahri L., Blandenier Q., Debroas D., de Groot G.A., de Vargas C., Domaizon I., Duckert C., Izaguirre I., Koenig I., Mataloni G., Schiaffino M.R., Mitchell E.A.D., Geisen S., Lara E., 2021 - Protist taxonomic and functional diversity in soil, freshwater and marine ecosystems, *Environ. Intern.*, 146, 106262.
- Urich T., Lanzén A., Qi J., Huson D.H., Schelper C., Schuster C., 2008 - Simultaneous Assessment of Soil Microbial Community Structure and Function through Analysis of the Meta-Transcriptome. *PLoS ONE*, 3 (6), e2526.
- Vaulot D., Geisen S., Mahé F., Bass D., 2022 - Pr2-primers: An 18S rRNA primer database for protists. *Mol. Ecol. Res.*, doi: 10.1111/1755-0998.13465.
- Velasco-González I., Sanchez-Jimenez A., Singer D., Murciano A., Diez-Hernando S., Lara E., Martín-Cereceda M., 2020 - Rain-Fed Granite Rock Basins Accumulate a High Diversity of Dormant Microbial Eukaryotes. *Microb. Ecol.*, 79, 882-897.

