

Biomasse microbienne carbonée et activités enzymatiques : gammes de valeurs obtenues pour différents sols agricoles français et belges

C. Petitjean_(1,2*), A. Philibert₍₁₎, V. Manneville₍₁₎, B. Amiaud_(3**), A.-S. Perrin₍₄₎, X. Charrier₍₅₎, F. Gastal₍₅₎, A. de Vlieghe₍₆₎, K. Willekens₍₆₎, D. Montenach₍₇₎, S. Houot₍₈₎, T. Morvan₍₉₎ et S. Piutti₍₂₎

1) Institut de l'Élevage, 75012 Paris, France

2) Université de Lorraine, INRA, UMR Agronomie et Environnement, 54518 Vandœuvre-lès-Nancy cedex, France

3) Université de Lorraine, AgroParisTech, INRA, Silva, 54000 Nancy, France

4) Terres Inovia, SupAgro, Campus de La Gaillarde, 34060 Montpellier, France

5) INRA, UE FERLUS, 86600 Lusignan, France

6) Research Institute for Agriculture, Fisheries and Food (ILVO), Burg. Van Gansberghelaan 92 box 1, 9820 Merelbeke, Belgique

7) INRA, UE Service d'Expérimentation Agronomique et Viticole, 68000 Colmar, France

8) INRA, AgroParisTech, UMR ECOSYS, 78850 Thiverval-Grignon, France

9) INRA, AgroCampus Ouest, UMR SAS, 35042 Rennes, France

* : Auteur correspondant : caroline.petitjean@agroparistech.fr

** Décédé le 29 septembre 2018. Notre collègue a été un acteur majeur de ce travail.

RÉSUMÉ

Depuis plusieurs décennies, les micro-organismes du sol ont été identifiés comme des acteurs majeurs du fonctionnement des sols et certaines variables microbiennes (abondance, diversité et activités) sont utilisées pour évaluer la qualité biologique des sols. Plus particulièrement, les activités enzymatiques d'origine microbienne impliquées dans la minéralisation des matières organiques des sols suscitent un fort intérêt ; néanmoins, aucun référentiel n'existe actuellement afin de les utiliser comme des indicateurs prédictifs des fonctions inhérentes à la fertilité des sols agricoles.

Dans ce contexte, nous avons mesuré six activités enzymatiques (protéases, arginine- et leucine- aminopeptidases, β -glucosidases, phosphatases acides, arylsulfatases) impliquées dans la décomposition / minéralisation des matières organiques du sol, ainsi que la biomasse microbienne, sur six dispositifs expérimentaux situés dans différents contextes pédoclimatiques français et belges.

Comment citer cet article :

Petitjean C., Philibert A., Manneville V., Amiaud B., Perrin A.-S., Charrier X., Gastal F., de Vlieghe A., Willekens K., Montenach D., Houot S., Morvan T., Piutti S. - 2019 - Biomasse microbienne carbonée et activités enzymatiques : gammes de valeurs obtenues pour différents sols agricoles français et belges, 26, Etude et Gestion des Sols, 81-92

Comment télécharger cet article :

<http://www.afes.fr/publications/revue-etude-et-gestion-des-sols/volume-26/>

Comment consulter/télécharger

tous les articles de la revue EGS : www.afes/egs/

Les résultats obtenus confirment que la gamme de valeurs d'activités enzymatiques et de biomasse microbienne mesurées pour différents types de sols est très large. Ainsi, les moyennes par dispositif des activités enzymatiques (exprimées par gramme de sol) varient d'un facteur compris entre 2,7 (pour les protéases) et 9,7 (pour les arylsulfatases). Concernant le carbone de la biomasse microbienne, les moyennes par dispositif varient de 159 à 488 $\mu\text{g C g}^{-1}$ sol. Nos résultats montrent que cette biomasse microbienne, exprimée comme une fraction du carbone organique du sol, varie de 1,5 à 3,1 %. Cette variabilité des activités enzymatiques et de la biomasse microbienne en fonction des sites apparaît fortement liée aux différences de caractéristiques physico-chimiques des sols, et certainement au mode d'occupation des sols. Notamment, les variables microbiennes mesurées sont toutes significativement corrélées, certaines positivement (protéases, arginine- et leucine- aminopeptidases, β -glucosidases, biomasse microbienne), d'autres négativement (phosphatases acides, arylsulfatases) à la teneur en argile du sol.

Nos résultats confirment ainsi la nécessité de disposer, pour chaque type de sol, d'un référentiel de valeurs d'activités enzymatiques et de biomasse microbienne avant d'envisager le développement d'indicateurs de fertilité des sols basés sur ces métriques.

Mots-clés

Activités enzymatiques du sol, biomasse microbienne du sol, indicateurs du fonctionnement du sol, composante biologique de la qualité du sol, matières organiques du sol.

SUMMARY

MICROBIAL BIOMASS CARBON AND ENZYMATIC ACTIVITIES: ranges of values obtained for different French and Belgian agricultural soils

For several decades, soil micro-organisms have been identified as key actors in soil functions and certain microbial variables (abundance, diversity and activities) are used to assess the biological quality of soil.

Microbial enzyme activities involved in the mineralization of soil organic matter are commonly assessed in scientific studies; nevertheless, no range of values and thresholds currently exist to use them as predictive indicators of the functions inherent in the fertility of agricultural soils.

In this context, we measured six enzyme activities (proteases, arginine- and leucine-aminopeptidases, β -glucosidases, acid phosphatases, arylsulfatases) involved in the mineralization of soil organic matter, as well as microbial biomass carbon, on six experimental sites with different pedoclimatic contexts in France and Belgium.

Our results confirmed that the range of activity and microbial biomass values, measured for different soil types, is very wide. Thus, the means of enzyme activity (expressed per gram of soil) varied from a factor of 2.7 (for proteases) to 9.7 (for arylsulfatases). Concerning the microbial biomass, the means varied from 159 to 488 $\mu\text{g C g}^{-1}$ soil, corresponding to 1.5 to 3.1 % as expressed as a fraction of soil organic carbon. This variability of enzyme activity and microbial biomass, according to the sites, appears strongly linked to the differences in soil physicochemical variables and land use. In particular, the microbial variables measured were all significantly correlated, some positively (proteases, arginine- and leucine-aminopeptidases, β -glucosidases, microbial biomass), others negatively (acid phosphatases, arylsulfatases), to soil clay content. Thus, our results confirmed the need for a frame of reference and thresholds for enzyme activity and microbial biomass for each type of soil before considering the development of soil indicators based on these metrics.

Key-words

Soil enzyme activity, microbial biomass carbon, soil indicators, biological quality, soil organic matter.

BIOMASA MICROBIANA CARBONADA Y ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS: rangos de valores obtenidos para diferentes suelos agrícolas franceses y belgas

Desde varias décadas, los microorganismos del suelo fueron identificados como actores mayores del funcionamiento de los suelos y se usaron ciertas variables microbianas (abundancia, diversidad y actividades) para evaluar la calidad biológica de los suelos. Más particularmente, las actividades enzimáticas de origen microbiana implicadas en la mineralización de las materias orgánicas de los suelos suscitan un gran interés; sin embargo, ningún referencial existe actualmente para utilizarlos como indicadores predictivos de las funciones inherentes a la fertilidad de los suelos agrícolas.

En este contexto, medimos seis actividades enzimáticas (proteasas, arginina- y leucina- aminopeptidasas, β -glucosidasas, fosfatasa ácida, arilsulfatasas) implicadas en la descomposición / mineralización de las materias orgánicas del suelo, así que la biomasa microbiana, en seis dispositivos experimentales localizados en diferentes contextos pedo-climáticos franceses y belgas.

Los resultados obtenidos confirman que el rango de valores de las actividades enzimáticas y de la biomasa microbiana medidas para diferentes tipos de suelos es muy largo. Así, los promedios por dispositivo de las actividades enzimáticas (expresados por gramo de suelo) varían de un factor comprendido entre 2,7 (para las proteasas) y 9,7 (para las arilsulfatasas). Por el carbono de la biomasa microbiana, los promedios por dispositivo varían de 159 a 488 $\mu\text{g C g}^{-1}$ suelo. Nuestros resultados muestran que esta biomasa microbiana, expresada como una fracción del carbono orgánico del suelo, varía de 1,5 a 3,1 %. Esta variabilidad de las actividades enzimáticas y de la biomasa microbiana en función de los sitios aparece fuertemente ligada a las diferencias de características físico-químicas, y ciertamente al modo de ocupación de los suelos. En particular, las variables microbianas medidas están todas significativamente relacionadas, ciertas positivamente (proteasas, arginina- y leucina- aminopeptidasas, β -glucosidasas, biomasa microbiana), otras negativamente (fosfatasas ácidas, arilsulfatasas) al contenido en arcilla del suelo.

Nuestros resultados confirman así la necesidad de disponer, para cada tipo de suelo, de un referencial de valores de actividades enzimáticas y de biomasa microbiana antes de considerar el desarrollo de indicadores de fertilidad de los suelos basados sobre estas métricas.

Palabras clave

Actividades enzimáticas del suelo, biomasa microbiana, indicadores de funcionamiento de los suelos, materias orgánicas de los suelos.

Le sol est un capital naturel doté de propriétés physiques, chimiques et biologiques impliquées dans divers processus (diffusion, oxydation, nitrification, dénitrification, etc.). Ces processus permettent aux sols de réaliser des fonctions, lesquelles soutiennent la fourniture de services écosystémiques (Adhikari and Hartemink, 2016; Dominati *et al.*, 2010; Vogel *et al.*, 2018). Parmi les différentes fonctions réalisées par les sols, la fertilité assure, *via* les cycles des nutriments, l'apport d'éléments nutritifs aux plantes (Dominati *et al.*, 2010). La fertilité résulte d'un ensemble de processus biologiques conditionnés par des facteurs physiques (structure, texture du sol, etc.), chimiques (teneur et qualité des matières organiques, pH, etc.) et climatiques qui influencent la dynamique des matières organiques des sols (MOS) (Stockdale *et al.*, 2006). La fertilité des sols est plus probablement le résultat des interactions entre ces différents facteurs et processus que la somme de ces derniers (Fardeau, 2015). La complexité des processus et de leurs interactions explique que les niveaux potentiels de fertilité peuvent être très différents entre des sols à l'échelle d'un pays.

Dans les écosystèmes, les MOS constituent le réservoir principal d'éléments minéraux pour les plantes. Les micro-organismes hétérotrophes du sol sont à la fois une fraction de ces MOS (une fraction du carbone (C) organique présent dans les sols) et les acteurs clef de la dynamique de ces matières organiques. En effet, les communautés microbiennes du sol synthétisent une large gamme d'enzymes qui interviennent dans la décomposition / minéralisation des MOS. Ces enzymes peuvent être intracellulaires ou extracellulaires. Les enzymes extracellulaires sont 1) adsorbées sur des composés organiques (débris de cellules, spores de champignons, etc.) ou minéraux (principalement des argiles), ou 2) libres dans la solution du sol. Le niveau de synthèse, le temps de résidence dans le sol (donc le stock) et la diversité de ces enzymes dépendent de l'abondance et des caractéristiques fonctionnelles des communautés microbiennes dont elles sont issues, mais également de facteurs

abiotiques du sol tels que la teneur en C organique, le pH, la texture, l'humidité et la température (Hendriksen *et al.*, 2016; Sinsabaugh *et al.*, 2008). Ce pool d'enzymes, qui représente le potentiel du sol à transformer des molécules organiques qui y sont localisées, peut être évalué (en laboratoire) par des mesures d'activités enzymatiques, réalisées dans les conditions optimales pour les enzymes étudiées ou dans des conditions proches de celles de leur environnement.

Depuis plusieurs décennies, les micro-organismes du sol, leur abondance (biomasse microbienne), leur diversité et leurs activités, sont utilisés comme indicateurs pour évaluer la fertilité des sols (Fardeau, 2015) et, d'une manière plus générale, la qualité biologique des sols (Chaussod, 1996) ainsi que les impacts des activités anthropiques (changement d'usage des terres, pollutions, etc.) sur le fonctionnement de cet écosystème. Alors que la mesure de la biomasse microbienne (par la méthode de fumigation-extraction) est reconnue comme un indicateur biologique opérationnel pouvant contribuer à gérer des problèmes liés au statut organique des sols (Chaussod, 1996), il n'en est pas encore de même pour les mesures d'activités enzymatiques. En effet, plusieurs auteurs ont souligné la difficulté d'interprétation des mesures d'activités enzymatiques, notamment du fait que la mesure d'une seule enzyme ne peut pas, à elle seule, représenter la complexité des processus impliqués dans la minéralisation des composés organiques du sol (Nannipieri *et al.*, 2018), et donc, ne permet pas de rendre compte de la fertilité d'un sol (Chaussod, 1996). En France, différents projets ont été conduits pour développer et standardiser des indicateurs (micro) biologiques, dans le but d'en faire des outils opérationnels pour la gestion des sols (par exemple: Programme ADEME « Bio-indicateurs de la qualité des sols » (Bispo *et al.*, 2009a, 2009b; Devillers *et al.*, 2009) et projet AgrInnov (Casdar 2001-2015, Rapport final projet AgrInnov, 2016; (Bispo *et al.*, 2017)). Ces différents projets, ainsi que le réseau de mesure de la qualité des sols (RMQS), ont amorcé la création de référentiels de valeurs

d'indicateurs microbiens. Sur le site internet du programme « Bio-indicateurs de la qualité des sols » de l'ADEME, il est ainsi possible de trouver des valeurs minimales, maximales, moyennes et la variabilité de différents indicateurs microbiens (dont la biomasse microbienne moléculaire et plusieurs activités enzymatiques) sur une population d'échantillons de sols français variés (prairiaux, cultivés, forestiers, en friche) (<https://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/ADEME-Bioindicateur/bdu.php>). Ces référentiels nécessitent d'être complétés; ils doivent notamment être établis pour différents contextes pédoclimatiques. En effet, l'influence des propriétés physico-chimiques des sols sur l'abondance microbienne (par exemple Dequiedt *et al.* (2011)) et sur des activités enzymatiques (par exemple Hendriksen *et al.* (2016); Sinsabaugh *et al.* (2008)) a été démontrée par plusieurs études menées à différentes échelles spatiales.

Dans ce contexte, nous avons mesuré six activités enzymatiques impliquées dans la décomposition / minéralisation des matières organiques ainsi que la biomasse microbienne du sol, sur six dispositifs expérimentaux (présentant des systèmes de culture et/ou systèmes techniques fourragers différents) situés dans différents contextes pédoclimatiques de France métropolitaine et de Belgique. Sur chacun des dispositifs, des systèmes de production végétale contrastés (grandes cultures avec ou sans prairies temporaires, prairies permanentes) sont mis en place, de façon à augmenter la gamme de variation des paramètres mesurés (les effets des pratiques agricoles sur les variables microbiennes ont fait l'objet d'un premier article: Petitjean *et al.*, 2018). Les objectifs du présent article sont 1) de fournir des gammes de valeurs des variables microbiennes mesurées dans les différents contextes pédoclimatiques des dispositifs étudiés; 2) de documenter les corrélations entre les variables microbiennes mesurées; 3) de documenter les corrélations existant entre des paramètres physico-chimiques des sols (texture, pH, teneurs en C organique, N total, calcaire total) et les variables microbiennes mesurées.

Tableau 1 - Présentation des dispositifs expérimentaux étudiés.

Table 1 - Experimental sites.

Gestionnaire	Localisation (département)	Année d'installation	Nombre de parcelles étudiées
INRA SOERE PRO	Colmar (68), site PRO'spective	2000	16
	Le Rheu (35), site EFELE	2012	16
INRA SOERE ACBB	Lusignan (86)	2005	16
ILVO	Merelbeke, Belgique	2007	9
Terres Inovia	Doignies (59)	2010	6
	Villedieu-sur-Indre (36)	2009	9

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique. SOERE : Système d'Observation et d'Expérimentation sur le long terme pour la Recherche en Environnement.

PRO : Produits Résiduels Organiques. EFELE : Effluents d'Élevage et Environnement. ACBB : Agroécosystème, Cycle Biogéochimique et Biodiversité. ILVO : Research Institute for Agriculture, Fisheries and Food.

MÉTHODES

Dispositifs expérimentaux et prélèvements des échantillons de sols

Les six dispositifs expérimentaux étudiés sont présentés dans le *tableau 1*; ils se situent dans différents contextes pédoclimatiques en France métropolitaine et en Belgique.

Les prélèvements des échantillons de sols ont été effectués entre les mois de mars et de mai 2016. Pour cette étude, la profondeur 0-15 cm a été retenue pour l'ensemble des sites; le sol du dispositif de Villedieu-sur-Indre étant superficiel, cela ne permettait pas d'accéder à une profondeur plus importante. Dans chacune des 72 parcelles, un échantillon composite de sol (composé de 15 sous-échantillons) a été réalisé. Les sous-échantillons ont été prélevés dans les quatre angles et au centre d'un quadrat (1 m de côté); l'opération a été répétée à trois endroits représentatifs de la parcelle. Pour le dispositif Le Rheu (site EFELE), les 15 sous-échantillons ont été effectués autour de six jalons répartis sur la parcelle (2 ou 3 sous-échantillons autour de chaque jalon). Les échantillons de sols ont été transportés dans des glacières jusqu'au laboratoire où ils ont été conservés à 4 °C.

Analyses physico-chimiques

Hormis la texture des sols du dispositif de Villedieu-sur-Indre (données fournies par Terres Inovia), les paramètres physico-chimiques des échantillons de sols ont été déterminés par le laboratoire Auréa Agrosociences. Les paramètres physico-chimiques retenus pour cette étude sont: les teneurs en argile, limons totaux et sables totaux, le pH_{eau}, les teneurs en calcaire total (CaCO₃), en N total (méthode de Dumas) et en C organique (méthode Anne).

Tableau 2 - Méthodes utilisées pour la mesure des activités enzymatiques. Tris : 2-amino-2-hydroxyméthylpropane-1,3-diol ; HCl : acide chlorhydrique ; Tyr : Tyrosine ; C : carbone organique du sol.

Table 2 - Methods used for microbial enzyme activities measurements. Tris: 2-amino-2-hydroxymethylpropane-1,3-diol; HCl: hydrochloric acid; Tyr: Tyrosine; C: soil organic carbon.

Activités enzymatiques	Cycles biogéochimiques	Méthode	Solution tampon	Substrat	Produit d'hydrolyse	Durée et température d'incubation	Unités utilisées dans cet article	Références pour les protocoles
Protéases	Azote et carbone	Colorimétrie	Tris-HCl 0,2 M; pH 8	Caséinate de sodium 2 %	Tyrosine	6 heures à 45°C	$\mu\text{g Tyr h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{sol}$ et $\text{mg Tyr h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{C}$	Ladd et Butler (1972)
Arginine aminopeptidases	Azote	Fluorimétrie	Tris-HCl 0,2 M; pH 8	L-arginine-7-amido-4-méthylcoumarin	7-Amino-4-méthylcoumarin	2 à 4 heures à 37°C	nmol h ⁻¹ g ⁻¹ sol et $\mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{C}$	D'après Marx et al. (2001), Niemi et Vepsäläinen (2005), Feng et al. (2016)
Leucine aminopeptidases	Azote			L-leucine-7-amido-4-méthylcoumarin				
Arylsulfatases	Soufre	Fluorimétrie	Acétate de sodium 1 M; pH 5,5	4-méthylumbelliferyl-sulfate	4-Méthylumbelliféron	6 heures à 37°C		
β -Glucosidases	Carbone			4-méthylumbelliferyl- β -D-glucopyranoside				
Phosphatases acides	Phosphore			4-méthylumbelliferyl-phosphate		1 heure à 37°C		

Analyses microbiennes

La biomasse microbienne a été mesurée par la méthode de fumigation-extraction (Vance et al., 1987) et en utilisant un coefficient de conversion $\text{KEC} = 0,45$ (Joergensen, 1996). Elle peut s'exprimer en μg de C par gramme de sol sec (valeur absolue) ou comme un pourcentage du C organique total (valeur relative), la biomasse microbienne étant une fraction du C organique présent dans les sols. Ce pourcentage de C sous forme vivante (rapport C microbien / C organique total) constitue un indicateur précoce et sensible du statut organique d'un sol. En effet, la biomasse microbienne, qui possède un taux de renouvellement mille fois plus rapide que le C organique total du sol, est plus sensible aux modifications du milieu que la teneur en C organique total, engendrant une modification précoce du rapport C microbien / C organique total (Chaussod, 1996).

Les six activités enzymatiques microbiennes mesurées sont impliquées dans différentes étapes de la décomposition / minéralisation des MOS et interviennent dans quatre grands cycles biogéochimiques (tableau 2). Ces activités enzymatiques sont dites « potentielles » car mesurées en conditions contrôlées de pH (utilisation de solution tampon), de température et de substrats en quantité non limitante, reflétant la capacité potentielle des sols à réaliser ces activités dans des conditions optimales (tableau 2). Les activités enzymatiques, à l'exception des protéases, ont été mesurées après ajout de toluène sur l'échantillon de sol, ce qui nous a permis d'accéder à la fraction intracellulaire des enzymes, en plus de la fraction extracellulaire. Dans cette étude, nous avons exprimé ces activités enzymatiques par gramme de sol et également par gramme de C organique (contenu dans le sol) (tableau 2).

Les échantillons de sols ont été préalablement tamisés à 5 mm.

Analyses statistiques

Pour comparer les paramètres physico-chimiques entre les six dispositifs expérimentaux, des analyses de variance à deux effets fixes (dispositifs expérimentaux et pratiques agricoles) et un effet aléatoire (blocs) ont été effectuées. Les comparaisons multiples entre dispositifs ont été faites avec un ajustement de Tukey. Ces analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel SAS version 9.4.

Une analyse en composantes principales (ACP) normée a été réalisée avec les sept variables microbiennes (exprimées par gramme de sol) en tant que variables actives et les dispositifs expérimentaux en tant que variables illustratives ($n = 72$) (package ade4, Dray et Dufour, 2007; package FactoMineR, Husson et al., 2015).

La relation entre les différentes variables microbiennes a été évaluée par des corrélations de Pearson (package corplot, (Wei and Simko, 2017)) associées, pour chaque corrélation, à un

Tableau 3 - Moyenne \pm écart-type des paramètres physico-chimiques des sols (0-15 cm) pour les six dispositifs expérimentaux. Pour chaque colonne, des lettres différentes indiquent une différence significative entre les dispositifs (Anova, p-value < 0,05 avec ajustement de Tukey).

CaCO₃ : calcaire total ; C org. : carbone organique ; N : azote.

Table 3 - Mean \pm standard deviation of soil physico-chemical parameters (0-15 cm) of the six experimental sites. For each column, means followed by the same letter did not differ significantly (Anova, p-value < 0.05 with Tukey's adjustment).

CaCO₃: total limestone; C org.: organic carbon; N: nitrogen.

Dispositif	Texture dominante (0-15 cm)	Argile (%)	Limons (%)	Sables (%)	pH eau (unité pH)	CaCO ₃ (%)	C org. (%)	N total (%)
Colmar	Limono-argileuse / limoneuse	21,5 ^a \pm 0,8	70,5 ^a \pm 0,7	8,0 ^b \pm 0,7	8,5 ^a \pm 0,0	10,3 ^a \pm 1,2	1,16 ^a \pm 0,09	0,13 ^a \pm 0,01
Le Rheu	Limoneuse	12,7 ^b \pm 0,3	71,8 ^a \pm 1,4	15,6 ^b \pm 1,2	6,4 ^b \pm 0,2	< 0,1 ^b	1,07 ^a \pm 0,07	0,12 ^{ab} \pm 0,01
Lusignan	Limoneuse	14,1 ^b \pm 0,7	69,8 ^a \pm 2,4	16,1 ^b \pm 2,3	6,6 ^c \pm 0,4	< 0,1 ^b	1,06 ^a \pm 0,12	0,12 ^{ab} \pm 0,02
Merelbeke	Sablo-limoneuse	6,4 ^c \pm 1,1	28,8 ^b \pm 4,0	64,9 ^c \pm 3,1	6,1 ^d \pm 0,6	< 0,1 ^b	1,00 ^a \pm 0,27	0,09 ^b \pm 0,02
Doignies	Limoneuse	14,8 ^b \pm 1,8	80,7 ^c \pm 1,9	4,6 ^a \pm 0,3	8,3 ^{ae} \pm 0,1	4,2 ^c \pm 3,7	1,56 ^b \pm 0,17	0,16 ^a \pm 0,01
Villedieu-sur-Indre	Argilo-sableuse	30,7 ^d \pm 7,5	13,5 ^d \pm 2,5	55,8 ^d \pm 9,8	8,2 ^e \pm 0,1	4,1 ^c \pm 4,0	1,95 ^b \pm 0,59	0,24 ^c \pm 0,07

test de significativité (package Hmisc, Harrell, 2015). La même méthodologie a été utilisée pour étudier les corrélations entre les variables microbiennes et les paramètres physico-chimiques des sols.

L'ACP et les corrélations de Pearson ont été réalisées avec le logiciel R version 3.4.3.

Un risque de première espèce (alpha) de 5 % a été retenu pour tous les tests.

RÉSULTATS

Caractérisation physico-chimique des sols des dispositifs étudiés

Les six dispositifs expérimentaux présentent un gradient de texture et de propriétés chimiques (tableau 3). Les dispositifs de Lusignan et Le Rheu (site EFELE) sont caractérisés par une texture limoneuse et des paramètres chimiques très proches; nous n'avons pas mis en évidence de différences significatives pour les teneurs en argile, limons, sables, C organique, N total et calcaire total entre ces deux dispositifs (tableau 3). Les dispositifs de Colmar, Villedieu-sur-Indre et Doignies présentent des valeurs de pH et des teneurs en CaCO₃ significativement supérieures aux trois autres dispositifs (tableau 3).

Gammes de valeurs des activités enzymatiques et de la biomasse microbienne dans les différents contextes pédo-climatiques étudiés

Le tableau 4 présente les moyennes et les écarts-types des sept variables microbiennes étudiées.

Les moyennes des activités enzymatiques, exprimées par gramme de sol, varient d'un facteur 2,7 à 9,7 selon les sites et les enzymes considérés. Les protéases présentent la variation inter-sites la plus faible: un facteur 2,7 entre la moyenne la plus élevée (site de Doignies) et la plus faible (site de Colmar). À l'opposé, les moyennes des activités arylsulfatases varient d'un facteur 9,7 entre les sites de Colmar et EFLE au Rheu. Lorsqu'elles sont exprimées par gramme de C organique du sol, ce sont les leucine-aminopeptidases qui présentent la plus faible variabilité inter-sites: un facteur 1,3 entre les sites de Villedieu-sur-Indre et Lusignan (tableau 4).

Sachant que le pool d'enzymes du sol est en partie lié à l'abondance des micro-organismes, nous avons évalué la taille du compartiment microbien par la mesure du carbone de la biomasse microbienne. Le carbone de la biomasse microbienne varie de 159 $\mu\text{g C g}^{-1}$ sol (moyenne pour le dispositif de Lusignan) à 488 $\mu\text{g C g}^{-1}$ sol (moyenne pour le dispositif de Villedieu-sur-

Indre) (tableau 4). Cette biomasse microbienne, exprimée comme une fraction du C organique total du sol, varie de 1,5 à 3,1 % (moyennes par dispositif) pour les sols considérés dans cette étude (tableau 4). Le dispositif de Doignies, qui a une teneur en C organique parmi les plus élevées (1,56 %, tableau 3), présente une fraction relativement faible de micro-organismes (1,6 %, tableau 4). À l'inverse, le dispositif de Merelbeke présente une teneur en C parmi les plus faibles (1,00 %, tableau 3), mais une proportion de carbone microbien parmi les plus élevées des six dispositifs étudiés (2,8 %, tableau 4).

Corrélations entre les variables microbiennes étudiées

Le cercle des corrélations de l'ACP (figure 1) montre que les activités aminopeptidases et β -glucosidases s'interprètent sur l'axe 1 et que ces activités sont corrélées positivement entre elles. Le coefficient de corrélation de Pearson (r) est égal à 0,91 entre les deux activités aminopeptidases (figure 2). Ce coefficient est égal à 0,76 entre les activités arginine aminopeptidases et β -glucosidases; $r = 0,90$ entre les activités leucine aminopeptidases et β -glucosidases (figure 2). Les activités arylsulfatases et phosphatases acides s'interprètent sur l'axe 2 (figure 1) et sont corrélées positivement entre elles ($r = 0,46$, figure 2). La biomasse microbienne, exprimée par

gramme de sol, est corrélée négativement avec les activités arylsulfatases et phosphatases acides (opposées sur l'axe 2, figure 1) et positivement avec les deux aminopeptidases et les β -glucosidases (figure 2). Cette biomasse microbienne, exprimée comme une fraction du C organique du sol, est corrélée négativement avec les activités arylsulfatases, phosphatases acides et protéases (figure 2).

Alors que les paramètres physico-chimiques des sols n'ont pas été utilisés pour réaliser l'ACP, le graphique des individus (figure 1) met en évidence une forte influence des dispositifs expérimentaux sur la répartition des individus (= les parcelles expérimentales) selon les axes 1 (53 % d'inertie) et 2 (29 % d'inertie). Il apparaît que chaque dispositif présente des activités enzymatiques et biomasse microbienne différentes de celles des autres sites, à l'exception des parcelles des dispositifs de Lusignan et Le Rheu (site EFELE) qui sont confondues sur ce premier plan factoriel (figure 1). La forte proximité de ces deux dispositifs sur le graphique des individus de l'ACP est certainement liée à des textures et des caractéristiques chimiques des sols très semblables (tableau 3).

Ces résultats (tableau 4, figure 1) mettent en évidence que la gamme de valeurs d'activités enzymatiques mesurées dans différents contextes pédoclimatiques est étendue et qu'il existe un lien fort avec les variables physico-chimiques.

Figure 1 - Représentations des individus (à gauche) et des variables actives (à droite) sur le premier plan factoriel (82 % d'inertie) issues de l'analyse en composantes principales des six dispositifs expérimentaux. Des ellipses de confiance représentant la variable « dispositif expérimental » ont été ajoutées sur le graphique des individus. Aminopep. : aminopeptidases. Les valeurs d'activités enzymatiques et de biomasse microbienne utilisées sont celles exprimées par gramme de sol.

Figure 1 - Principal Component Analysis (PCA) of the six experimental sites. The first factorial plane expressed 82 % of the total dataset inertia. Aminopep.: aminopeptidases. Values of enzymatic activities and microbial biomass used for PCA are those expressed per gram of soil.

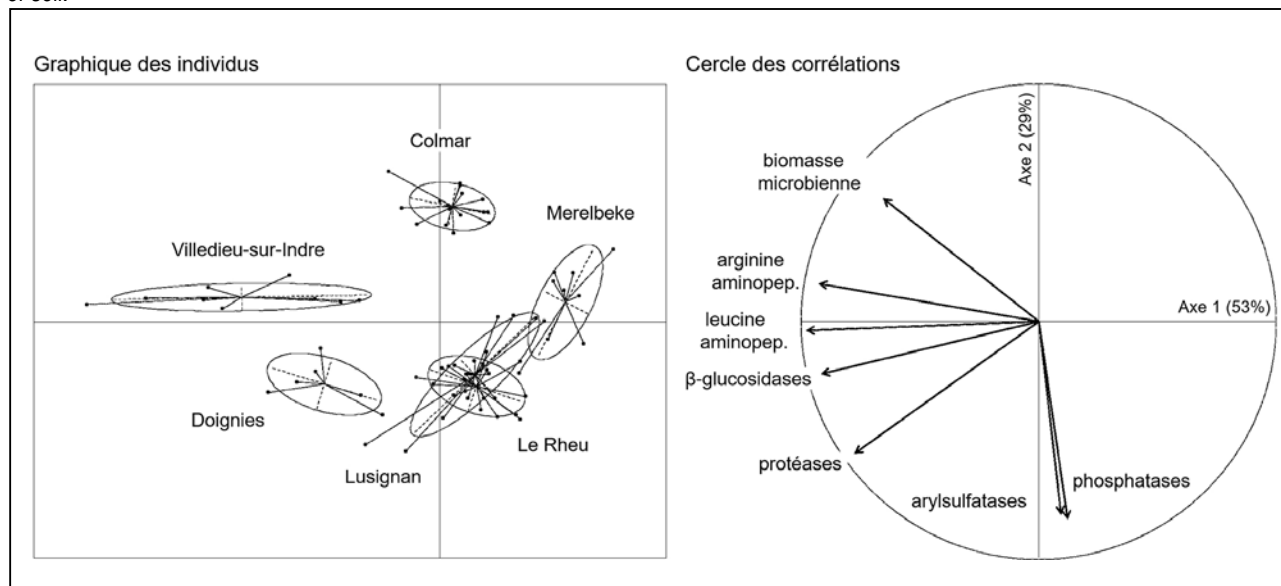


Figure 2 - Coefficients de corrélation de Pearson pour l'ensemble des parcelles étudiées (n=72). * p-value $\leq 0,05$; ** p-value $\leq 0,01$; *** p-value $\leq 0,001$; ns : non significatif. BM : biomasse microbienne; C org. : carbone organique; N : azote; CaCO₃ : calcaire total.

Figure 2 - Pearson's correlation coefficients for the 72 studied plots. * p-value $\leq 0,05$; ** p-value $\leq 0,01$; *** p-value $\leq 0,001$; ns: not significant. BM: microbial biomass; C org.: organic carbon; N: nitrogen; CaCO₃: total limestone.

	Leucine aminopeptidases	Phosphatases	β -glucosidases	Arylsulfatases	Protéases	BM ($\mu\text{g C g}^{-1}$ sol)	BM (% C org.)	C org.	N total	pH _{eau}	CaCO ₃	Argile	Limons	Sables
Arginine aminopeptidases	0,91 ***	ns	0,76 ***	-0,25 *	0,62 ***	0,59 ***	ns	0,76 ***	0,77 ***	0,73 ***	0,52 ***	0,73 ***	ns	ns
Leucine aminopeptidases		ns	0,90 ***	ns	0,76 ***	0,58 ***	ns	0,83 ***	0,86 ***	0,53 ***	0,27 *	0,76 ***	-0,25 *	ns
		Phosphatases	ns	0,46 ***	0,35 ***	-0,41 ***	-0,52 ***	ns	ns	-0,68 ***	-0,67 ***	-0,56 ***	ns	ns
			β -glucosidases	ns	0,79 ***	0,46 ***	ns	0,76 ***	0,80 ***	0,32 **	ns	0,65 ***	-0,29 *	ns
				Arylsulfatases	0,32 **	-0,38 ***	-0,45 ***	ns	ns	-0,66 ***	-0,61 ***	-0,35 **	ns	ns
				Protéases		ns	-0,40 ***	0,68 ***	0,67 ***	ns	ns	0,37 **	ns	ns
						BM ($\mu\text{g C g}^{-1}$ sol)	0,74 ***	0,71 ***	0,66 ***	0,53 ***	0,57 ***	0,72 ***	-0,49 ***	0,26 *
							BM (% C org.)	ns	ns	0,38 **	0,52 ***	0,29 *	-0,30 **	ns
								C org.	0,93 ***	0,41 ***	0,32 **	0,72 ***	-0,40 ***	ns
								N total	N total	0,48 ***	0,32 **	0,82 ***	-0,38 ***	ns
										pH _{eau}	0,79 ***	0,72 ***	ns	-0,24 *
											CaCO ₃	0,61 ***	ns	-0,32 **
												Argile	-0,29 *	ns
													Limons	-0,94 ***

Corrélations entre les variables microbiennes et les paramètres physico-chimiques des sols

La figure 2 présente les corrélations entre les paramètres physico-chimiques et les variables microbiennes. Les activités enzymatiques arginine- et leucine-aminopeptidases (spécifiques du cycle de l'azote) sont significativement et positivement corrélées aux teneurs en argile, CaCO₃, N total, C organique, ainsi qu'au pH (figure 2). Les activités enzymatiques protéases et β -glucosidases, qui sont des enzymes permettant aux micro-organismes du sol de se fournir en C, sont également significativement corrélées positivement avec les teneurs en argile des sols, N total et C organique (figure 2). Les activités β -glucosidases sont aussi significativement corrélées positivement avec le pH du sol. Les activités enzymatiques impliquées dans les cycles du phosphore (phosphatases acides) et du soufre (arylsulfatases) sont significativement corrélées négativement aux teneurs en argile et CaCO₃, ainsi qu'au pH (figure 2). Pour l'ensemble des parcelles étudiées (n = 72), la biomasse microbienne, exprimée en $\mu\text{g C}$ par gramme de sol, est significativement corrélée à tous les paramètres physico-chimiques mesurés (corrélation négative avec la teneur en limons, corrélations positives avec les autres paramètres, figure 2).

Discussion

La biomasse microbienne (taille du compartiment microbien présent dans le sol), exprimée en $\mu\text{g de C}$ par gramme de sol est corrélée significativement et positivement aux teneurs en C organique total et N total des sols étudiés (figure 2). Plusieurs études ont mis en évidence que les

Tableau 4 - Moyenne ± écart-type des variables microbiennes des sols (0-15 cm) pour les six dispositifs expérimentaux.
C org. : carbone organique du sol ; aminopep. : aminopeptidases ; Tyr : tyrosine.

Table 4 - Mean ± standard deviation of soil microbial variables (0-15 cm) of the six experimental sites.
C org.: soil organic carbon; aminopep.: aminopeptidases; Tyr: tyrosine.

Dispositif	Biomasse microbienne		Arginine aminopeptidases		Leucine aminopeptidases		Protéases		Phosphatases		β-Glucosidases		Arylsulfatases	
	µg C g ⁻¹ sol	% C	nmol h ⁻¹ g ⁻¹ sol	µmol h ⁻¹ g ⁻¹ C	nmol h ⁻¹ g ⁻¹ sol	µmol h ⁻¹ g ⁻¹ C	µg Tyr h ⁻¹ g ⁻¹ sol	mg Tyr h ⁻¹ g ⁻¹ C	nmol h ⁻¹ g ⁻¹ sol	µmol h ⁻¹ g ⁻¹ C	nmol h ⁻¹ g ⁻¹ sol	µmol h ⁻¹ g ⁻¹ C	nmol h ⁻¹ g ⁻¹ sol	µmol h ⁻¹ g ⁻¹ C
Colmar	356 ± 88	3,1 ± 0,7	226 ± 25	20 ± 2	234 ± 28	20 ± 2	66 ± 15	6 ± 1	247 ± 20	21 ± 2	460 ± 74	40 ± 6	11 ± 2	1 ± 0
Le Rheu	191 ± 61	1,8 ± 0,5	153 ± 33	14 ± 3	230 ± 38	21 ± 3	115 ± 12	11 ± 1	881 ± 88	83 ± 11	501 ± 75	47 ± 7	107 ± 21	10 ± 2
Lusignan	159 ± 49	1,5 ± 0,5	156 ± 36	15 ± 3	207 ± 57	19 ± 4	117 ± 19	11 ± 1	1246 ± 252	117 ± 14	565 ± 129	53 ± 8	54 ± 20	5 ± 2
Mérelbeke	274 ± 68	2,8 ± 0,4	74 ± 17	8 ± 2	100 ± 13	10 ± 2	66 ± 15	7 ± 1	1095 ± 494	107 ± 27	297 ± 81	30 ± 6	38 ± 18	4 ± 2
Doignies	256 ± 77	1,6 ± 0,5	352 ± 47	23 ± 3	375 ± 34	24 ± 2	175 ± 16	11 ± 1	1302 ± 125	85 ± 14	681 ± 84	44 ± 5	50 ± 5	3 ± 1
Villedieu-sur-Indre	488 ± 151	2,5 ± 0,4	337 ± 74	18 ± 3	468 ± 81	25 ± 4	167 ± 35	9 ± 2	534 ± 59	30 ± 8	927 ± 120	51 ± 12	40 ± 4	2 ± 1

teneurs et/ou la disponibilité en C et N dans les sols sont des paramètres majeurs contrôlant la biomasse microbienne (Fierer *et al.*, 2009; Serna-Chavez *et al.*, 2013; Wardle, 1992; Yang *et al.*, 2016; Zak *et al.*, 1994). Si l'augmentation de C organique d'un sol est à l'origine d'une augmentation de la biomasse microbienne, nos résultats montrent que la proportion de biomasse microbienne par rapport au C organique du sol est différente selon le sol considéré (tableau 4). Pour les six dispositifs expérimentaux, les moyennes de biomasse microbienne (exprimée en pourcentage du C organique du sol) varient entre 1,5 et 3,1 % (tableau 4); ce qui est en accord avec les valeurs communément retrouvées dans la littérature (par exemple Anderson et Domsch, 1989; Sparling, 1992). D'autres paramètres physico-chimiques peuvent influencer la biomasse microbienne tels que la teneur en argile (Insam *et al.*, 1989; Sørensen, 1983) et le pH (Weigand *et al.*, 1995). En accord avec ces précédentes études, nos résultats montrent que la teneur en argile et le pH du sol présentent des corrélations positives avec la biomasse microbienne (exprimée par gramme de sol ou comme une fraction du C organique du sol).

Nous avons observé que les moyennes des activités enzymatiques varient d'un facteur 2,7 à 9,7 selon les sites et les enzymes considérées. La variabilité des valeurs d'activités enzymatiques a déjà été mise en évidence par des études menées à l'échelle d'un bassin-versant (Acosta-Martínez *et al.*, 2007) et à l'échelle de différents biomes en Europe (Hendriksen *et al.*, 2016; Sinsabaugh *et al.*, 2008) ou dans le monde (Sinsabaugh *et al.*, 2008). Ces précédentes études ont montré les effets des propriétés des sols, du climat et de l'usage des terres sur les activités enzymatiques microbiennes. Ainsi, Acosta-Martínez *et al.* (2007) montrent que les activités β-glucosidases, arylsulfatases et phosphatases acides sont significativement influencées par le type de sol (Ultisols, Inceptisols, Oxisols) et par l'usage des terres (forêt, cultures, prairies). Pour les activités phosphatases acides, ces auteurs ont observé un facteur de 10 entre la valeur la plus faible et la valeur la plus élevée; ils ont observé un facteur d'environ 60 pour les β-glucosidases (Acosta-Martínez *et al.*, 2007).

Le métabolisme des communautés microbiennes du sol est responsable de la présence dans les sols d'enzymes. Une fois libérées dans les sols, les enzymes microbiennes sont notamment affectées par la température (Wallenstein *et al.*, 2009) et par des phénomènes d'adsorption sur les argiles et composés humiques (Burns, 1982), qui contribuent à déterminer le pool d'enzymes actives du sol. Du fait de l'hétérotrophie des communautés microbiennes, le niveau de présence de ces enzymes dépend fortement de la teneur et/ou de la disponibilité en C et N des sols (Hendriksen *et al.*, 2016; Sinsabaugh *et al.*, 2008; Štursová and Baldrian, 2011). Les enzymes en lien avec les cycles du carbone et de l'azote mesurées dans notre étude (β-glucosidases, protéases, arginine- et leucine-aminopeptidases) sont ainsi corrélées positivement avec les teneurs en C organique et N

total du sol (*figure 2*). Dans le cas des enzymes liées au cycle de l'azote, telles que les protéases, leur synthèse est induite par une augmentation de la teneur en protéines (Geisseler et Horwath, 2008), forme majoritairement présente dans le pool d'azote total du sol. L'augmentation de la biomasse microbienne (suite à une augmentation de la concentration en C organique du sol), peut créer une limitation en éléments minéraux, et de ce fait, induire l'augmentation de la synthèse de certaines enzymes. Dans notre étude, ceci est le cas pour les aminopeptidases (*figure 2*), conformément à d'autres travaux (Lin et al., 2017); mais pas pour les arylsulfatases (*figure 2*), contrairement aux travaux de Deng et Tabatabai (1997) qui ont montré des corrélations positives entre la teneur en C organique de sols les activités arylsulfatases. Ceci pourrait être lié à l'utilisation d'un substrat fluorimétrique dans le cadre de notre étude, dont la disponibilité dans le sol pourrait s'avérer différente du substrat colorimétrique utilisé dans les travaux de Deng et Tabatabai (1997). Nos résultats montrent que les phosphatases acides ne présentent pas de corrélation significative avec la teneur en C organique des sols (*figure 2*), ce qui est en accord avec d'autres travaux (Lin et al., 2017). Le pH du sol conditionne également fortement le fonctionnement microbiologique et *in fine* la libération des enzymes impliquées dans la décomposition des MOS (Hendriksen et al., 2016; Sinsabaugh et al., 2008). Le pH de la solution du sol exerce notamment un fort contrôle sur l'activité enzymatique en influençant la conformation de l'enzyme, son adsorption sur les surfaces solides et la solubilité des substrats. Pour les 72 échantillons de sols analysés au cours de notre étude, nous avons effectivement observé que le pH du sol est significativement corrélé aux activités enzymatiques, à l'exception des protéases (*figure 2*). En général, lorsque le pH augmente, les activités microbiennes augmentent également (Sinsabaugh et al., 2008; Wardle, 1992). Dans notre étude, les activités arylsulfatases et phosphatases acides sont corrélées négativement avec le pH du sol, probablement du fait d'un pH optimum très bas et/ou d'une forte sensibilité aux variations de pH (Ekenler et Tabatabai, 2003; Turner, 2010). Comme l'ont souligné Nannipieri et al. (2018), une des difficultés d'interprétation des activités enzymatiques provient du fait que certains protocoles utilisés ne sont ni optimisés, ni standardisés, notamment les méthodes impliquant des microplaques et des substrats fluorogènes. Ainsi, une harmonisation des protocoles des mesures d'activités enzymatiques est nécessaire pour pouvoir réaliser des comparaisons fiables entre les études.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Nos résultats confirment que la gamme de valeurs d'activités enzymatiques microbiennes mesurées pour différents types de sols est très étendue. Cette variabilité des valeurs d'activités enzymatiques, indépendamment des

pratiques agricoles associées, apparaît fortement liée aux différences de caractéristiques physico-chimiques des sols. Notamment, les variables microbiennes mesurées dans cette étude sont toutes significativement corrélées à la teneur en argile du sol. Nos résultats confirment ainsi la nécessité de disposer, pour chaque type de sol, d'un référentiel de valeurs de variables microbiennes (telles que celles mesurées dans cette étude) avant d'envisager le développement d'indicateurs de fertilité des sols. La création de ces référentiels nécessite une harmonisation des protocoles des mesures d'activités enzymatiques, incluant les prélèvements (profondeur) et le stockage des échantillons de sol, afin de pouvoir réaliser des comparaisons fiables entre les études. Les projets Microbioterre et AGRO-ECO-SOL (en cours) permettront sans nul doute d'étoffer les bases de données actuelles. Les référentiels permettront, in fine, le développement d'outils d'aide à la décision (OAD) à destination des acteurs du monde agricole. Ces OAD aideront le conseil agronomique ayant pour objectifs de renforcer (ou maintenir) les teneurs en MOS et d'assurer leur minéralisation, favorisant ainsi l'acquisition des éléments nutritifs par les plantes.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été financée par le Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière (CNIEL). Nous remercions les partenaires (INRA SOERE ACBB, INRA SOERE PRO, Terres Inovia et ILVO) pour l'accès aux dispositifs expérimentaux et pour les renseignements fournis concernant les parcelles étudiées. Les auteurs remercient Valentin Bonetti et Mathilde Moretti pour leur contribution à ce travail dans le cadre de leur stage d'étude. Nos remerciements vont également à Stéphane Cadoux, Gilles Sauzet, Stéphane Schryve et Pierre-Edouard Deroy (Terres Inovia). Enfin, nous remercions Lauric Cécillon et Alain Brauman pour leurs conseils et remarques qui ont permis d'améliorer cet article.

BIBLIOGRAPHIE

- Acosta-Martínez, V., Cruz, L., Sotomayor-Ramírez, D., Pérez-Alegria, L., 2007. Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. *Applied Soil Ecology* 35, 35-45. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.05.012>
- Adhikari, K., Hartemink, A.E., 2016. Linking soils to ecosystem services – A global review. *Geoderma* 262, 101-111. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.08.009>
- Anderson, T.-H., Domsch, K.H., 1989. Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. *Soil Biology and Biochemistry* 21, 471-479. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(89\)90117-X](https://doi.org/10.1016/0038-0717(89)90117-X)
- Bispo, A., Cluzeau, D., Creamer, R., Dombos, M., Graefe, U., Krogh, P.H., Sousa, J.P., Pérès, G., Rutgers, M., Winding, A., Römbke, J., 2009a. Indicators for Monitoring Soil Biodiversity. *Integrated Environmental Assessment and Management* 5, 717-719. https://doi.org/10.1897/IEAM_2009-064.1

- Bispo, A., Grand, C., Galsomies, L., 2009b. Le programme ADEME "Bioindicateurs de qualité des sols." *Etude et Gestion des Sols* 16, 145–158.
- Bispo, A., Jolivet, C., Ranjard, L., Cluzeau, D., Hedde, M., Pérès, G., 2017. Mise en place d'outils et de bio-indicateurs pertinents de la qualité des sols, in: *Les Sols et La Vie Souterraine. Des Enjeux Majeurs En Agroécologie*. J.-F. Briat, D. Job Coordinateurs. Editions Quae. 327 p.
- Burns, R.G., 1982. Enzyme activity in soil: location and a possible role in microbial ecology. *Soil Biology and Biochemistry* 14, 423–427.
- Chaussod, R., 1996. La qualité biologique des sols : évaluation et implications. *Étude et Gestion des Sols* 3, 261–278.
- Deng, S.P., Tabatabai, M.A., 1997. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils: III. Phosphatases and arylsulfatase. *Biology and Fertility of Soils* 24, 141–146.
- Dequiedt, S., Saby, N.P.A., Lelievre, M., Jolivet, C., Thioulouse, J., Toutain, B., Arrouays, D., Bispo, A., Lemanceau, P., Ranjard, L., 2011. Biogeographical patterns of soil molecular microbial biomass as influenced by soil characteristics and management: Biogeography of soil microbial biomass. *Global Ecology and Biogeography* 20, 641–652. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2010.00628.x>
- Devillers, J., Pandard, P., Charissou, A.M., 2009. Sélection multicritère de bioindicateurs de la qualité des sols. *Etude et Gestion des Sols* 16, 233–242.
- Dominati, E., Patterson, M., Mackay, A., 2010. A framework for classifying and quantifying the natural capital and ecosystem services of soils. *Ecological Economics* 69, 1858–1868. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2010.05.002>
- Dray, S., Dufour, A.-B., 2007. The ade4 Package: Implementing the Duality Diagram for Ecologists. *Journal of Statistical Software* 22. <https://doi.org/10.18637/jss.v022.i04>
- Ekenet, M., Tabatabai, M.A., 2003. Responses of phosphatases and arylsulfatase in soils to liming and tillage systems. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 166, 281–290.
- Fardeau, J.-C., 2015. Des indicateurs de la fertilité des sols. *Etude et Gestion des Sols* 22, 77–100.
- Feng, X., Ling, N., Chen, H., Zhu, C., Duan, Y., Peng, C., Yu, G., Ran, W., Shen, Q., Guo, S., 2016. Soil ionic and enzymatic responses and correlations to fertilizations amended with and without organic fertilizer in long-term experiments. *Scientific Reports* 6. <https://doi.org/10.1038/srep24559>
- Fierer, N., Strickland, M.S., Liptzin, D., Bradford, M.A., Cleveland, C.C., 2009. Global patterns in belowground communities. *Ecology Letters* 12, 1238–1249. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01360.x>
- Geisseler, D., Horwath, W., 2008. Regulation of extracellular protease activity in soil in response to different sources and concentrations of nitrogen and carbon. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 3040–3048. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.09.001>
- Harrell, F.E.J., with contributions from Charles Dupont and many others, 2015. Hmisc: Harrell Miscellaneous. R package version 3.16-0. <https://CRAN.R-project.org/package=Hmisc>.
- Hendriksen, N.B., Creamer, R.E., Stone, D., Winding, A., 2016. Soil exo-enzyme activities across Europe—The influence of climate, land-use and soil properties. *Applied Soil Ecology* 97, 44–48. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.08.012>
- Husson, F., Josse, J., Lê, S., Mazet, J., 2015. FactoMineR: Multivariate Exploratory Data Analysis and Data Mining. R package version 1.30. <https://CRAN.R-project.org/package=FactoMineR>.
- Insam, H., Parkinson, D., Domsch, K.H., 1989. Influence of macroclimate on soil microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry* 21, 211–221. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(89\)90097-7](https://doi.org/10.1016/0038-0717(89)90097-7)
- Joergensen, 1996. The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: calibration of the KEC value. *Soil Biology and Biochemistry* 28, 25–31.
- Ladd, J.N., Butler, J.H.A., 1972. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biology and Biochemistry* 4, 19–30.
- Lin, S., Wang, S., Si, Y., Yang, W., Zhu, S., Ni, W., 2017. Variations in eco-enzymatic stoichiometric and microbial characteristics in paddy soil as affected by long-term integrated organic-inorganic fertilization. *PLOS ONE* 12, e0189908. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189908>
- Marx, M.-C., Wood, M., Jarvis, S.C., 2001. A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 33, 1633–1640.
- Nannipieri, P., Trasar-Cepeda, C., Dick, R.P., 2018. Soil enzyme activity: a brief history and biochemistry as a basis for appropriate interpretations and meta-analysis. *Biology and Fertility of Soils* 54, 11–19. <https://doi.org/10.1007/s00374-017-1245-6>
- Niemi, R.M., Vepsäläinen, M., 2005. Stability of the fluorogenic enzyme substrates and pH optima of enzyme activities in different Finnish soils. *Journal of Microbiological Methods* 60, 195–205. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2004.09.010>
- Petitjean, C., Philibert, A., Manneville, V., Amiaud, B., Perrin, A.S., Charrier, X., Gastal, F., de Vliegher, A., Willekens, K., Montenach, D., Houot, S., Morvan, T., Piutti, S., 2018. Systèmes de polyculture-élevage : quels effets des pratiques agricoles sur les teneurs en matières organiques et le fonctionnement microbien du sol ? *Fourrages* 236, 239–247.
- Rapport final projet AgrInnov, 2016. https://www.ofsv.org/images/documentations/rapport_agrinnov_final_8_juin_2016.pdf.
- Serna-Chavez, H.M., Fierer, N., van Bodegom, P.M., 2013. Global drivers and patterns of microbial abundance in soil: Global patterns of soil microbial biomass. *Global Ecology and Biogeography* 22, 1162–1172. <https://doi.org/10.1111/geb.12070>
- Sinsabaugh, R.L., Lauber, C.L., Weintraub, M.N., Ahmed, B., Allison, S.D., Crenshaw, C., Contosta, A.R., Cusack, D., Frey, S., Gallo, M.E., Gartner, T.B., Hobbie, S.E., Holland, K., Keeler, B.L., Powers, J.S., Stursova, M., Takacs-Vesbach, C., Waldrop, M.P., Wallenstein, M.D., Zak, D.R., Zeglin, L.H., 2008. Stoichiometry of soil enzyme activity. *Ecology Letters* 11, 1252–1264. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01245.x>
- Sørensen, L.H., 1983. Size and persistence of the microbial biomass formed during the humification of glucose, hemicellulose, cellulose, and straw in soils containing different amounts of clay. *Plant and Soil* 75, 121–130. <https://doi.org/10.1007/BF02178619>
- Sparling, G., 1992. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. *Australian Journal of Soil Research* 30, 195. <https://doi.org/10.1071/SR9920195>
- Stockdale, E.A., Shepherd, M.A., Fortune, S., Cuttle, S.P., 2006. Soil fertility in organic farming systems - fundamentally different? *Soil Use and Management* 18, 301–308. <https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2002.tb00272.x>
- Štursová, M., Baldrian, P., 2011. Effects of soil properties and management on the activity of soil organic matter transforming enzymes and the quantification of soil-bound and free activity. *Plant and Soil* 338, 99–110. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0296-3>
- Turner, B.L., 2010. Variation in pH optima of hydrolytic enzyme activities in tropical rain forest soils. *Applied and Environmental Microbiology* 76, 6485–6493.
- Vance, E.D., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil biology and Biochemistry* 19, 703–707.
- Vogel, H.-J., Bartke, S., Daedlow, K., Helming, K., Kögel-Knabner, I., Lang, B., Rabot, E., Russell, D., Stöbel, B., Weller, U., Wiesmeier, M., Wollschläger, U., 2018. A systemic approach for modeling soil functions. *SOIL* 4, 83–92. <https://doi.org/10.5194/soil-4-83-2018>

- Wallenstein, M.D., McMahon, S.K., Schimel, J.P., 2009. Seasonal variation in enzyme activities and temperature sensitivities in Arctic tundra soils. *Global Change Biology* 15, 1631–1639. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01819.x>
- Wardle, D.A., 1992. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. *Biological Reviews* 67, 321–358. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1992.tb00728.x>
- Wei, T., Simko, V., 2017. R package “corrplot”: Visualization of a Correlation Matrix (Version 0.84). Available from <https://github.com/taiyun/corrplot>.
- Weigand, S., Auerswald, K., Beck, T., 1995. Microbial biomass in agricultural topsoils after 6 years of bare fallow. *Biology and Fertility of Soils* 19, 129–134. <https://doi.org/10.1007/BF00336148>
- Yang, N., Zou, D., Yang, M., Lin, Z., 2016. Variations in Soil Microbial Biomass Carbon and Soil Dissolved Organic Carbon in the Re-Vegetation of Hilly Slopes with Purple Soil. *PLOS ONE* 11, e0166536. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166536>
- Zak, D.R., Tilman, D., Parmenter, R.R., Rice, C.W., Fisher, F.M., Vose, J., Milchunas, D., Martin, C.W., 1994. Plant Production and Soil Microorganisms in Late-Successional Ecosystems: A Continental-Scale Study. *Ecology* 75, 2333. <https://doi.org/10.2307/1940888>