

**LES TRAITS FONCTIONNELS RACINAIRES, UN OUTIL POUR COMPRENDRE
LES INTERACTIONS ENTRE LES PLANTES CULTIVÉES
ET LES MICROORGANISMES DU SOL ?¹**

***ROOT FUNCTIONAL TRAITS, A USEFUL TOOL TO UNDERSTAND INTERACTIONS
BETWEEN CROPS AND NITROGEN CYCLE MICROBIAL ACTIVITIES ?***

par Nicolas ROMILLAC²

Résumé :

Les traits fonctionnels racinaires présentent un potentiel pour mieux comprendre la manière dont les plantes cultivées modifient les activités microbiennes du cycle de l'azote. Notre objectif était d'identifier, parmi les traits liés au prélèvement et à la rhizodéposition d'azote et de carbone, ceux expliquant les variations des activités protéase et d'ammonification au-cours du développement du pois et du blé. Les activités d'ammonification et protéase variaient, respectivement, au cours du développement du pois et du blé (Figure 1). Ces variations étaient directement expliquées par l'évolution de plusieurs traits racinaires (cas de l'ammonification) ou par des variations d'autres variables du sol induites par les traits racinaires (cas de l'activité protéase) (Figure 2).

Abstract :

Functional traits are potentially useful to understand how crops modify microbial activities linked to nitrogen cycling in soil. Nevertheless, root functional traits have been understudied. Our objective was to identify, among root traits linked to nitrogen (N) and carbon (C) uptake and rhizodeposition, those explaining the variations of protease and ammonification activities during pea and wheat development. Ammonification and protease activities varied during pea and wheat development, respectively (Figure 1). Variations of ammonification under pea were positively correlated to root dry matter content (RDMC), total root length and fine root percentage (Figure 2). Ammonification was also correlated to soil soluble C, a variable negatively correlated with RDMC and fine root percentage but positively correlated to root mass fraction. Protease activity variations were explained by none of the wheat root traits but were explained by variations of microbial biomass N. Microbial biomass N was negatively correlated to RDMC and total root length. Relationships between functional traits and microbial activities give clues to the mechanisms behind activities variations. Ammonification could increase under the last stages of pea development due to C limitation induced by pea roots, in conjunction with a supply of amino

¹ Thèse réalisée au Laboratoire Agronomie et Environnement, Université de Lorraine, école doctorale RP2E, sous la direction de Bernard Amiaud, Séverine Piutti et Sophie Slezack-Deschaumes, soutenue le 9 décembre 2015 à Vandoeuvre-lès-Nancy

² Courriel : nicolas.romillac@wanadoo.fr

Laboratoire Agronomie et Environnement, UMR 1121, 2 Avenue de la forêt de Haye, TSA 40602, F-5418 Vandoeuvre-lès-Nancy

acids from fine roots. Under wheat, modification of mineral nutrient availability could be the mechanism by which wheat modify microbial biomass N, as RDMC and total root length are indicative of nutrient uptake.

Contexte

Au cours du XX^{ème} siècle, la production agricole a fortement augmenté en raison d'un fort recours aux intrants issus de l'industrie chimique, comme les pesticides et les engrais minéraux. Néanmoins, ces produits sont responsables d'effets négatifs sur l'environnement (pollution de l'air et de l'eau, perte de biodiversité, dégradation des sols...). Ces effets négatifs ont conduit à la mise en place de réglementations et de politiques agricoles incitatives qui constituent un ensemble de pressions pour un changement de pratiques agricoles. Cependant, en raison d'une forte demande mondiale en produits agricoles, il est nécessaire de maintenir un haut niveau de production.

Diverses solutions ont été proposées pour répondre à ce défi, dont l'intensification écologique (Chevassus-au-Louis et Griffon, 2008). L'intensification écologique consiste à utiliser au maximum les processus écosystémiques réalisés par les organismes présents dans les écosystèmes cultivés pour éviter de recourir aux intrants pour réduire les pollutions. Par exemple, la minéralisation de l'azote dans les sols est un processus écosystémique, réalisé par des microorganismes (bactéries et champignons), qui joue un rôle important pour la nutrition des plantes en transformant l'azote organique en azote minéral, facilement assimilable.

Une meilleure compréhension des processus à l'œuvre dans les écosystèmes cultivés est donc un enjeu central de l'intensification écologique. Au cours des deux dernières décennies, l'écologie végétale a développé des outils pour comprendre l'effet des organismes sur le fonctionnement des écosystèmes au travers de l'approche par traits fonctionnels. Les traits fonctionnels sont « *des caractéristiques morphologiques, physiologiques ou phénologiques mesurables à l'échelle de l'individu* » (Violle *et al.*, 2007). Les traits fonctionnels des organismes conditionnent notamment leur capacité à modifier les processus écosystémiques. Jusqu'à présent, dans les écosystèmes cultivés, cette approche a principalement été appliquée aux relations entre culture et adventices (voir par exemple Garnier et Navas, 2012 ; Worthington et Reberg-Horton, 2013). Il a par exemple été montré que la hauteur des adventices (trait fonctionnel) est un indicateur de leur capacité à causer une perte de rendement par compétition (processus) (Storkey, 2006).

Les écosystèmes cultivés actuels sont généralement dominés par une seule plante cultivée, homogène génétiquement. L'agriculteur possède donc un levier d'action en choisissant des variétés ou des espèces dont les traits fonctionnels particuliers permettent de manipuler les processus écosystémiques. Hors les plantes peuvent modifier les activités microbiennes impliquées dans la minéralisation de l'azote (Knops *et al.*, 2002). Elles ont la capacité de modifier la disponibilité en carbone et en azote dans les sols en prélevant et en rhizodéposant (par exsudation ou par production de litière racinaire) des molécules azotées et carbonées. Les modifications de la disponibilité en carbone et en azote, des nutriments nécessaires à la croissance des microorganismes, peuvent ensuite modifier l'abondance des microorganismes et leur niveau d'activités enzymatiques impliquées dans la minéralisation de l'azote (Figure 1). L'analyse des traits fonctionnels racinaires offre une opportunité de comprendre finement les interactions entre le développement du système racinaire, les communautés microbiennes et les processus de minéralisation de l'azote, dans la mesure où les racines constituent les organes par lesquels les flux de nutriments minéraux et organiques s'effectuent entre la plante et le sol (Bardgett *et al.*, 2014). A titre d'exemple, il a été montré pour quelques espèces prairiales une corrélation positive entre nitrification et ratio biomasse

aérienne/biomasse racinaire (Legay *et al.*, 2016) ou entre dénitrification et teneur racinaire en azote (Cantarel *et al.*, 2015). Nitrification et dénitrification sont deux activités microbiennes intervenant à la fin du processus de minéralisation de l'azote.

Démarche expérimentale

Notre objectif était de déterminer quels traits racinaires des plantes cultivées influencent l'abondance et l'activité des communautés microbiennes impliquées dans la décomposition et la minéralisation de l'azote (N). Nous avons choisi deux plantes ayant des besoins en azote et des systèmes racinaires différents : le pois, capable de fixer l'azote atmosphérique et prélevant de ce fait peu d'azote dans le sol, possédant des racines à forte teneur en azote mais ayant une faible rhizodéposition de carbone (C) et une faible biomasse racinaire, et le blé, une plante prélevant beaucoup d'azote, avec une rhizodéposition de C et une biomasse racinaire importante.

Nous avons cultivé une variété de pois de printemps (*P. sativum* L., cv. Kayanne) et une variété de blé de printemps (*Triticum aestivum* L., cv. Sensas) dans des pots, en conditions contrôlées. Nous avons mesuré à plusieurs stades de leur développement, végétatifs et reproducteurs, des traits fonctionnels racinaires liés à la rhizodéposition et au prélèvement de nutriments. Nous avons ensuite analysé les relations entre les traits fonctionnels et deux activités enzymatiques d'origine microbienne présentes dans les sols : l'activité protéase et l'activité d'ammonification. L'activité protéase, qui hydrolyse les protéines en acides aminés, est considérée comme l'activité limitant la minéralisation de l'azote dans les sols (Jan *et al.*, 2009). L'activité d'ammonification, qui hydrolyse les acides aminés en ammonium, réalise une des dernières étapes de minéralisation de l'azote (Geisseler *et al.*, 2010).

Plusieurs traits fonctionnels potentiellement liés à l'acquisition de l'azote et à la rhizodéposition ont été ainsi déterminés : la longueur racinaire totale, le pourcentage de racines fines, la longueur racinaire spécifique, le diamètre moyen, la teneur racinaire en matière sèche (RDMC), la fraction racinaire massique (RMF) et les teneurs racinaires en C et N total et soluble dans l'eau.

Nous avons également mesuré des variables liées à la disponibilité en N et C dans les sols : teneur en N minéral, teneur en N et C solubles dans l'eau chaude, biomasses microbiennes N et C. Nous avons mesuré l'activité protéase potentielle sous le pois et le blé et l'activité potentielle d'ammonification sous le pois. Les mesures ont été menées en utilisant des méthodes standard, détaillées dans Romillac *et al.* (2015).

Nous avons ensuite mené des analyses statistiques par redondance (RDA) afin d'identifier des relations de cause à effet entre trois groupes de variables : les activités microbiennes, les variables liées à la disponibilité en N et C dans le sol, et les traits fonctionnels racinaires. En effet, nous partons du présupposé que les plantes peuvent influencer les communautés microbiennes soit directement, soit indirectement, en modifiant la disponibilité en C et N dans le sol (Figure 1).

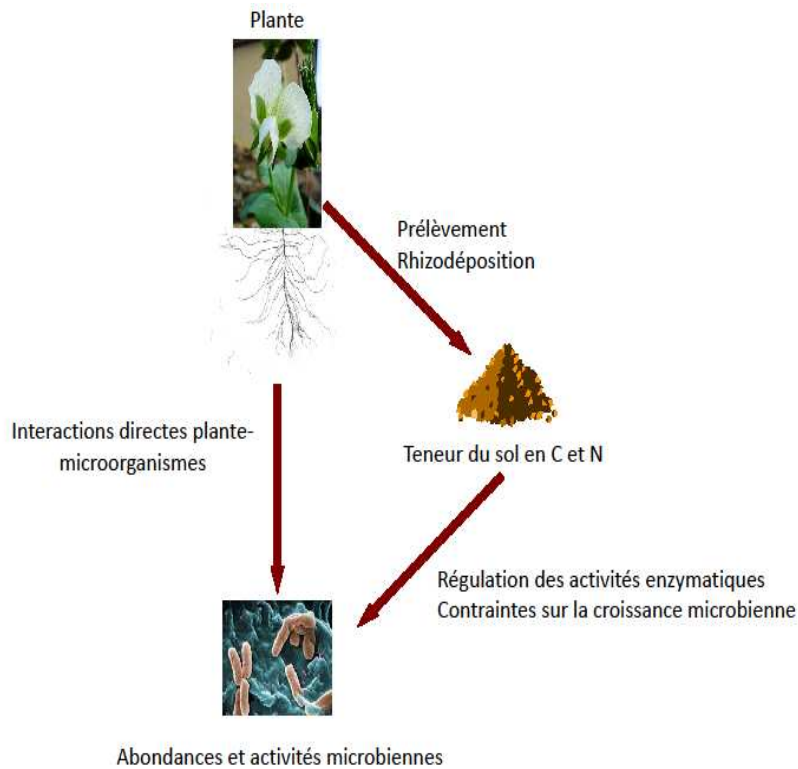


Figure 1 Schéma conceptuel du contrôle des plantes sur les activités microbiennes du sol

Figure 1 Conceptual scheme of plant control on soil microbial activities

Résultats

Sous le pois, nous avons observé que l'activité d'ammonification augmentait au cours du développement de la plante (Figure 2). Cette activité était positivement corrélée à la teneur racinaire en matière sèche (RDMC), à la longueur racinaire totale et au pourcentage de racines fines (Figure 3).

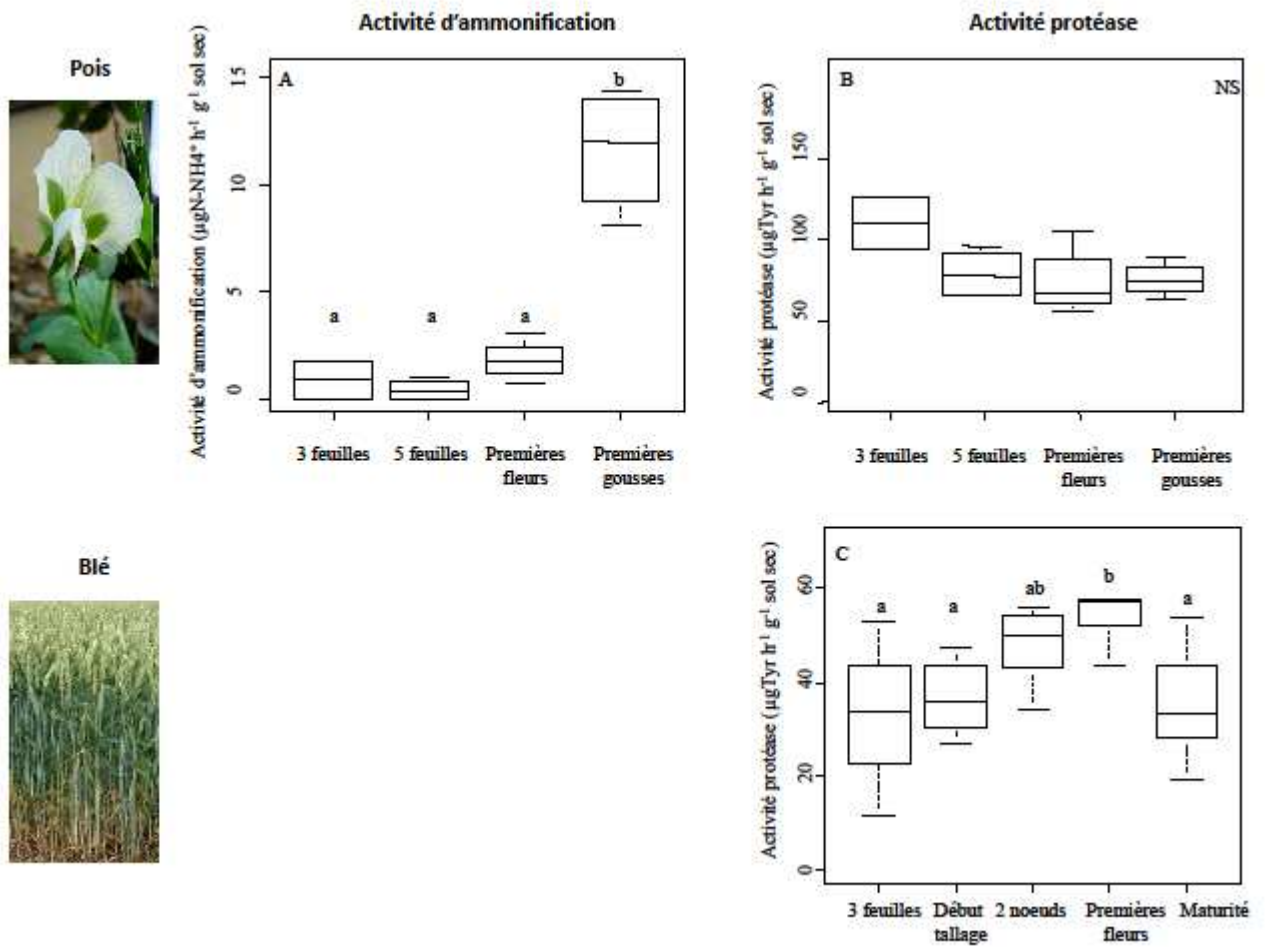


Figure 2 Variations des activités d'ammonification (A) et protéase (B et C) au cours du développement du pois et du blé. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre moyennes ($P < 0.05$) (modifié d'après Romillac et al., 2015, reproduit avec la permission de Elsevier)

Figure 2 Variations of potential ammonification (A) and protease (B and C) activities along pea (A and B) and wheat (C) development. Different letters indicate significant differences between means ($P < 0.05$) (modified from Romillac et al., 2015, reprinted with the permission of Elsevier)

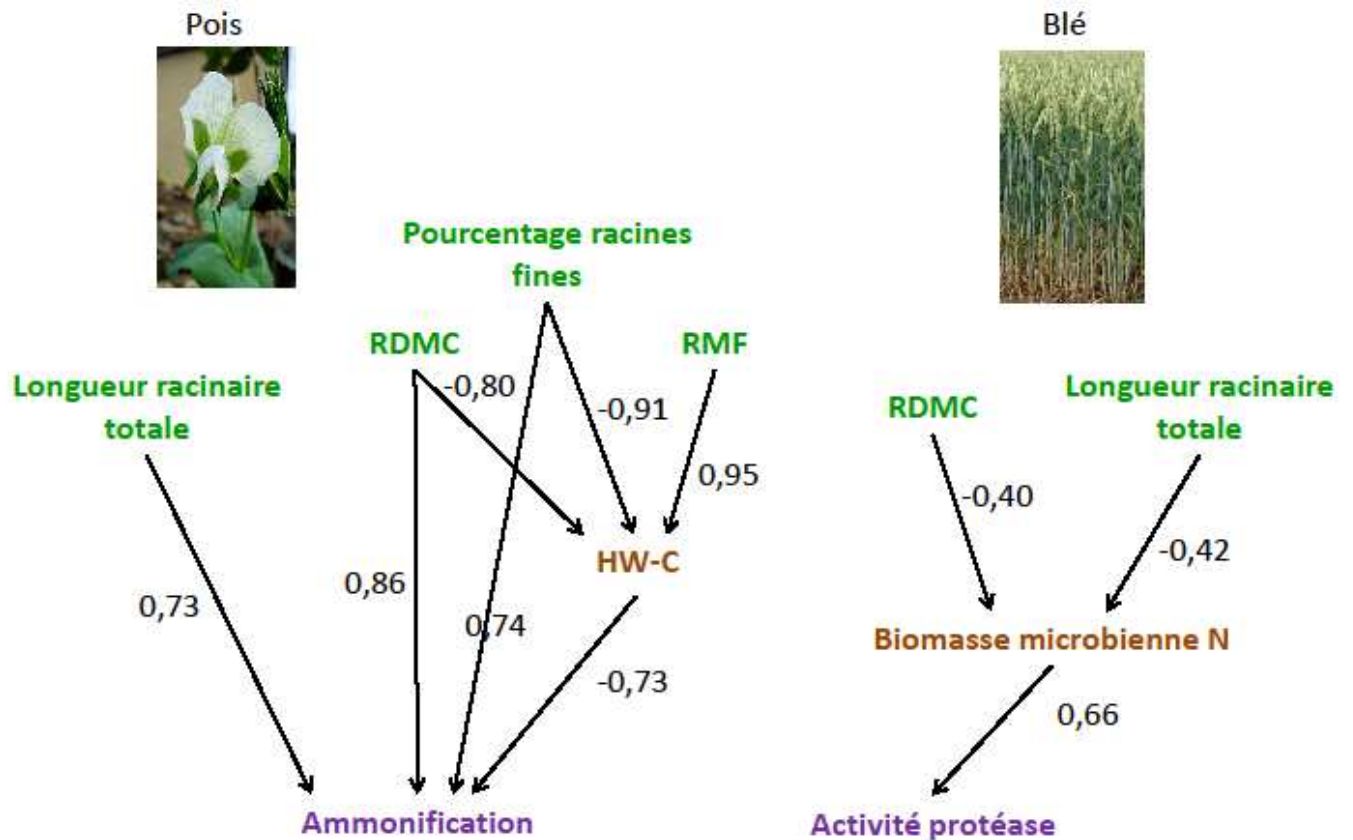


Figure 3 Relations entre les traits fonctionnels racinaires du pois et du blé (vert), les variables liées à la disponibilité du sol en C et N (marron) et les activités microbiennes potentielles d'ammonification et de protéolyse (violet). Les valeurs associées aux flèches sont les coefficients de corrélation de Pearson. RDMC: teneur en matière sèche des racines; RMF: fraction massique racinaire, HW-C: teneur du sol en C soluble

Figure 3 Relationships between pea and wheat root functional traits (green), soil variables linked to C and N availability (brown) and potential ammonification and protease activities (violet). Values on arrows are Pearson correlation coefficients. RDMC: root dry matter content; RMF: root mass fraction; HW-C: soil hot-water soluble C

L'activité d'ammonification était également négativement corrélée avec la teneur en C soluble du sol, qui était elle-même négativement corrélée avec le RDMC et le pourcentage de racines fines mais positivement corrélée avec la fraction massique racinaire (RMF). L'augmentation du RDMC au cours du développement du pois traduit une augmentation de la densité des tissus, ce qui limite les mouvements d'éléments soluble, tandis que la diminution du RMF indique une diminution de l'allocation de C aux racines par le pois. L'évolution de ces deux traits tend à indiquer une diminution de la rhizodéposition de C aux derniers stades du développement, probablement responsable de la diminution de la teneur en C soluble du sol et qui pourrait induire une forte limitation en C pour les microorganismes. Par ailleurs, l'augmentation du pourcentage de racines

finer pourrait fournir des quantités importantes d'acides aminés au sol car les racines fines sont censées avoir une durée de vie courte et une forte teneur en acides aminés (Jones *et al.*, 2005). Les microorganismes pourraient ainsi minéraliser ces acides aminés, au travers de leur activité d'ammonification, pour subvenir à leurs besoins en C et rejeter dans le sol l'azote minéral excédentaire.

L'activité protéase n'était pas influencée par le développement du système racinaire du pois. En revanche, elle augmentait au cours du développement du blé, jusqu'au stade premières fleurs, avant de diminuer aux derniers stades (Figure 2). Aucun des traits fonctionnels racinaires mesurés sur le blé n'expliquaient l'évolution de l'activité protéase. En revanche, l'activité protéase était positivement corrélée à la biomasse microbienne azotée (Figure 3). Cette corrélation positive est fréquemment rapportée dans la littérature et est attribuée à la synthèse constitutive (non régulée) des protéases par certains microorganismes (Geisseler *et al.*, 2010). La biomasse microbienne azotée variait au-cours du développement du blé en lien avec les traits racinaires : elle était négativement corrélée à la teneur racinaire en matière sèche (RDMC) et à la longueur racinaire totale, des traits fonctionnels dont la valeur augmentait au cours du développement du blé. Comme le RDMC et la longueur totale racinaire sont liées à la capacité de prélèvement et de rétention des nutriments du blé, leur relation négative avec la biomasse microbienne azotée pourrait être liée à des variations de disponibilité en N et C dans le sol induites par la plante : une plante qui prélève plus de N et rhizodépose moins de C limite le développement des microorganismes.

Conclusion

Nos résultats mettent en lumière la possibilité d'utiliser les traits racinaires pour comprendre les interactions entre plantes et activités enzymatiques microbiennes impliquées dans la minéralisation de N. La relation entre activités et traits racinaires est soit directe, soit indirecte, due à la modification de variables du sol induites par l'évolution du système racinaire. La teneur racinaire en matière sèche (RDMC) semble être un bon trait indicateur de l'effet des plantes sur les activités microbiennes, probablement en raison de son caractère intégrateur de la physiologie végétale. En revanche, la longueur racinaire spécifique, souvent considérée comme un trait fonctionnel important, n'expliquait pas les variations d'activité dans notre étude. Néanmoins, les approches en conditions contrôlées ne prennent pas en compte la diversité des facteurs agissant simultanément sur les activités enzymatiques au champ.

Les approches au champ posent des problèmes méthodologiques en raison de la difficulté d'extraire l'intégralité du système racinaire d'un individu. Cependant, certains des traits identifiés comme cruciaux pour l'influence des plantes sur leur environnement (RDMC, pourcentage de racines fines...) peuvent être mesurés sur des portions du système racinaire. Dans ces conditions, il paraît possible d'étudier les relations entre traits végétaux et microorganismes sur des carottes de sol prélevées au champ.

Une approche au champ permettrait de répondre à un certain nombre de questions liées à la relation diversité-fonctionnement et à la plasticité des traits fonctionnels. Les agroécosystèmes de grande culture hébergent généralement plusieurs espèces de plantes, cultivées ou adventices. Une plus ou moins grande diversité de traits fonctionnels, induite par la coexistence de plantes d'espèces différentes, est susceptible d'influencer les processus microbiens, comme cela a déjà été montré dans la littérature pour les traits aériens (Garnier et Navas, 2012). Les approches au champ devraient permettre de caractériser la diversité des traits fonctionnels racinaires sans qu'il soit besoin d'attribuer chaque racine à une espèce ou un individu.

Par ailleurs, les traits fonctionnels végétaux font preuve de plasticité en réponse aux conditions environnementales (Borgy *et al.*, 2016), notamment en réponse aux variations climatiques interannuelles. Les activités et abondances microbiennes répondant également aux variations climatiques (Romillac, 2015), il serait intéressant de déterminer dans quelle mesure ces variations sont médiées par des modifications des traits fonctionnels racinaires.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Bardgett, R.D., Mommer, L., De Vries, F.T., 2014. – Going underground: Root traits as drivers of ecosystem processes. *Trends in Ecology and Evolution* **29**, 692–699. doi:10.1016/j.tree.2014.10.006.
- (2) Borgy, B., Perronne, R., Kohler, C., Grison, A.-L., Amiaud, B., Gaba, S., 2016. – Changes in functional diversity and intraspecific trait variability of weeds in response to crop sequences and climate, *Weed Research*, **56**, 102–113.
- (3) Cantarel, A.A.M., Pommier, T., Desclos-Theveniau, M., Diquelou, S., Dumont, M., Grassein, F., Kastl, E.-M., Grigulis, K., Laine, P., Lavorel, S., Lemauviel-Lavenant, S., Personeni, E., Schloter, M., Poly, F., 2015. – Using plant traits to explain plant–microbe relationships involved in nitrogen acquisition, *Ecology*, **96**(3), 788–799.
- (4) Chevassus au Louis, B., Griffon, M., 2008. – La nouvelle modernité : une agriculture productive à haute valeur écologique. *Déméter: Économie et Stratégies Agricoles* **14**, 7–48.
- (5) Garnier, E., Navas, M., 2012. – A trait-based approach to comparative functional plant ecology: concepts, methods and applications for agroecology. A review. *Agronomy for Sustainable Development* **32**, 365–399. doi:10.1007/s13593-011-0036-y.
- (6) Geisseler, D., Horwath, W.R., Joergensen, R.G., Ludwig, B., 2010. – Pathways of nitrogen utilization by soil microorganisms - A review. *Soil Biology and Biochemistry* **42**, 2058–2067. doi:10.1016/j.soilbio.2010.08.021.
- (7) Jan, M.T., Roberts, P., Tonheim, S.K., Jones, D.L., 2009. – Protein breakdown represents a major bottleneck in nitrogen cycling in grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry* **41**, 2272–2282. doi:10.1016/j.soilbio.2009.08.013.
- (8) Jones, D. L., Healey, J. R., Willett, V. B., Farrar, J. F., Hodge, A., 2005. – Dissolved organic nitrogen uptake by plants - an important N uptake pathway ? *Soil Biology and Biochemistry* **37**, 413-423.
- (9) Knops, J.M.H., Bradley, K.L., Wedin, D.A., 2002. Mechanisms of plant species impacts on ecosystem nitrogen cycling. *Ecology Letters* **5**, 454–466. doi:10.1046/j.1461-0248.2002.00332.x.
- (10) Legay, N., Grassein, F., Binet, M.N., Arnoldi, C., Personeni, E., Perigon, S., Poly, F., Pommier, T., Puissant, J., Clément, J.C., Lavorel, S., Mouhamadou, B., 2016. – Plant species identities and fertilization influence on arbuscular mycorrhizal fungal colonisation and soil bacterial activities. *Applied Soil Ecology* **98**, 132-139.
- (11) Romillac, N., 2015. – Effets de l'introduction du pois dans une succession de cultures sur certaines communautés végétales et bactériennes et leurs fonctions écosystémiques associées, thèse de doctorat, soutenue le 9 décembre 2015 pour l'obtention du grade de docteur de l'Université de Lorraine.
- (12) Romillac, N., Piutti, S., Amiaud, B., Slezack-Deschaumes, S., 2015. – Influence of pea root traits modulating soil bioavailable C and N effects upon ammonification activity. *Soil Biology and Biochemistry* **90**, 148–151.
- (13) Storkey, J., 2006. – A functional group approach to the management of UK arable weeds to support biological diversity. *Weed Research* **46**, 513–522. doi:10.1111/j.1365-3180.2006.00528.x.
- (14) Violle, C., Navas, M., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., Garnier, E., 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos* **116**, 882–892. doi:10.1111/j.2007.0030-1299.15559.x.
- (15) Worthington, M., Reberg-Horton, C., 2013. – Breeding cereal crops for enhanced weed suppression: Optimizing allelopathy and competitive ability. *Journal of Chemical Ecology* **39**, 213–231. doi:10.1007/s10886-013-0247-6.