



THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1

sous le sceau de l'Université Bretagne Loire

pour le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1

Mention : Biologie

Ecole doctorale Écologie Géosciences Agronomie Alimentation

présentée par

Kevin Potard

Préparée à l'unité de recherche 6553 ECOBIO & 6251 IPR

Ecosystèmes, Biodiversité, Evolution

&

Institut Physique de Rennes

Observatoire des Sciences de l'Univers de Rennes

**Les émissions de
Composés Organiques
Volatils (COVs) par les
sols dans les paysages
agricoles. Identification
des sources et
incidences sur la qualité
de l'air.**

**Thèse soutenue à Rennes
le 21 décembre 2017**

devant le jury composé de :

Christophe GUIMBAUD

Professeur d'université – LPC2E / *rapporteur*

Tiphaine CHEVALLIER

Chargée de Recherche – IRD / *rapporteur*

Alexandre TOMAS

Professeur d'université – IMT Lille Douais / *Président de Jury*

Dominique WOLBERT

Professeur d'université – ENSCR / *examineur*

Françoise BINET

Directrice de Recherche - ECOBIO / *directrice de thèse*

Jean-Luc LE GARREC

Maitre de conférence – IPR / *co-directeur de thèse*

Cécile MONARD

Chargée de recherche – ECOBIO / *co-directrice de thèse*

Kevin POTARD

Les émissions de Composés Organiques Volatils par les sols dans les paysages agricoles. Identification des sources et incidences sur la qualité de l'air

L'échec n'existe pas, soit nous réussissons,
soit nous apprenons.

- Modifié de Nelson Mandela

Remerciements

Voilà, trois années qui se concrétisent, la fin d'une aventure scientifique certes mais aussi humaine. C'est pourquoi je tiens à remercier toutes les personnes qui ont permis que cette thèse soit ce qu'elle est.

Tout d'abord, je tiens à remercier les membres du jury qui ont bien voulu évaluer mon travail. Merci à Christophe Guimbaud Merci à Tiphaine Chevallier Merci à Alexandre Tomas Merci à Dominique Wolbert

De façon globale, je tiens à remercier mes encadrants, pour m'avoir laissé exprimer mes idées, même quand j'avais tort, j'ai ainsi pu énormément apprendre. Plus spécifiquement, je tiens à remercier Françoise, ma directrice, qui a su me garder sur les rails, malgré mon enthousiasme à vouloir tout explorer, merci de m'avoir appris à garder une ligne de travail sans me disperser. Je remercie également Jean-Luc, mon co-directeur, pour tous les moments que nous avons partagés sur le terrain, j'en garderai un très bon souvenir. Cécile, un grand merci, tu m'as encadré au jour le jour et tu as réussi à me supporter, donc merci pour ta patience, ton soutien et pour tout ce que tu m'as appris.

Je tiens à remercier Laurence Galsomiès, qui a bien voulu être en charge de mon suivi pour l'ADEME. J'en profite pour remercier toute l'équipe administrative de l'ADEME, qui fait un travail remarquable.

Quant aux premiers stagiaires que j'ai encadrés, je tenais à vous remercier, Alizée pour les grands débats que nous avons eus sur le terrain et Thomas, pour ta gentillesse, ton entrain.

Un très grand MERCI à Nathalie, pour ton aide infallible lorsqu'il s'est agi de faire des mesures physico-chimique et pour les bons moments que nous avons passés lors des mesures de COVs. Et bien entendu, je n'oublie pas mon GROLAR, un ours qui se reconnaîtra, sans toi cette thèse n'aurait pas été la même (pour les moments sur le terrain, nos discussions, pour nos blagues, pour le cidre et la bière). Merci à Romain Causse-Vedrines qui m'a beaucoup aidé lors des PCR et RT-PCR. Je te remercie aussi pour les rires autour de la fabrication de la bière.

En tant que parasite officiel de la cafétéria des Long Champs et des pauses café à 7h30, je remercie Romain, Olivier, Isabelle, Guillaume et tous les participant à ce café matinal : notamment pour les fous rires. Romain et Olivier, merci pour la course hebdomadaire qui m'a permis de me vider la tête. Merci à la "maman" des doctorants d'ECOBIO, car dès qu'il y a un souci on dit : "Mme PICOUAYS" et hop il n'y plus de problème.

J'en viens à la team 216. Merci beaucoup les amis, grâce à vous j'ai passé 3 années magnifiques. Merci à ma dudette, pour les rires, les discussions scientifiques, les moments de partage, de doute et pour le chocolat :-). Merci à Eve, pour nos discussions, pour ta bonne humeur et pour m'avoir supporté quand Alix ou Nathan n'étaient pas là. Merci aussi à Lorine, la lyonnaise de la Team, notamment pour tes petites attentions qui égaillaient une journée. Et là, j'ai la pression, car je dois remercier mon dude. Je ne pourrais pas te remercier assez, mais en venant à Rennes pour ma thèse, je ne pensais pas trouver un ami aussi important que toi.

Merci à Lou, alias bebar, j'ai beaucoup rigolé avec toi et cela faisait du bien. Merci aussi à Kevin, Maxime et Diana parce que même si officiellement vous ne faites pas partie du bureau 216, c'est tout comme. J'en profite pour remercier tous les doctorants et post-doc d'ECOBIO, pour votre énergie.

Merci aux membres de l'IPR et notamment à l'équipe phys-mol, j'aurais voulu passer plus de temps dans vos locaux pour discuter avec vous, car le peu que nous avons pu échanger me fût très enrichissant. Je remercie également, Julien, Sofian, Elsa, Martin, Jérémy, Hamza et tous les doctorants de l'IPR avec qui j'ai passé de bons moments. Je remercie également Lucie Pitois et les membres de l'atelier de mécanique pour la qualité de leur travail et pour avoir toujours respecté les deadline imposées. Merci à vous.

Je ne pense pas qu'ils liront cette thèse, mais je tiens à remercier cinq groupes de musique, Ugly King, The Necromancers, Somali Yacht club et Harold Martinez et Arch enemy, car ils m'ont accompagné les longs soirs d'écriture. J'en viens donc naturellement à remercier Bertrand, Vincent et Ludivine pour nos discussions autour de la musique et de l'art.

Merci à Valérie Briand pour les articles envoyés. Merci également à Sandra pour avoir été patiente avec moi lorsque je devais remplir des bons de commandes. Merci à Frédérique, Marion, Alexis, André-Jean Philippe et les membres du café du bat 14B, pour ce moment de détente du matin.

Merci Papa et Maman, je sais que je ne vous le dirais jamais assez pour tous ce que vous m'avez apporté. Mais ici, je tiens à vous remercier pour toutes les fois où vous avez été présent pour moi (et il y en a un paquet). Un gros merci à mes frérots que je retrouve régulièrement avec plaisir. Et merci à la petite dernière de la famille, ma sœur, qui a bien du courage de supporter 3 grands frères comme nous (à moins que cela soit l'inverse). En tout cas je suis fier d'avoir une famille telle que la nôtre. Merci à mes grands-parents et plus particulièrement à Papi, qui est le premier à m'avoir

fait découvrir ce qu'est un écosystème. Merci pour tout.

Merci aussi à ma belle-famille, merci pour toutes vos attentions lorsque je viens chez vous. Donc merci à Dominique et à Alain.

Merci aussi à la Team jeu de rôle, sans qui cela ne serait pas pareil. Je détaillerai bien tout ce pourquoi je vous remercie, mais cela serait trop long. Merci à Antoine, Clément, Sylvain, Pauline, Teddy, Thibault et à mes amis, pour leur soutien lorsque j'en avais besoin.

Et enfin, à ma Femme. Merci! Merci pour ton soutien, nos discussions, nos rires... On partage notre vie depuis plus de 8 ans maintenant et j'espère encore bien plus. Je ne détails pas plus les remerciements pour toi, mais sache que je pourrais réécrire une thèse rien que pour te remercier¹

1. et si ça ce n'est pas mieux que de te décrocher la lune :-D.

Table des matières

1	Introduction Générale	1
1.1	Les sources identifiées de COVs	2
1.1.1	Les émissions à l'interface océan-atmosphère	3
1.1.2	Les COVs émis par les végétaux	3
1.1.3	Les COVs émis dans l'atmosphère par les activités humaines	6
1.1.4	Les émissions de COVs à l'échelle des écosystèmes	7
1.2	Les enjeux environnementaux liés aux COVs	9
1.2.1	Pollution de l'air : les COVs modifient la composition chimique de la troposphère	9
1.2.2	Rétroactions sur le fonctionnement des écosystèmes	14
1.3	Les sols : une source de COVs biogéniques sous-estimée	15
1.3.1	Les facteurs abiotiques et biotiques de régulation de la production de COVs dans les sols et leurs émissions par les sols	17
1.3.2	Le climat régule les flux bidirectionnels des COVs à l'interface sol- atmosphère	21
1.3.3	L'intégration spatio-temporelle des émissions de COVs à l'interface sol-atmosphère	23
1.4	Agriculture et pollution de l'air : des enjeux sociaux économiques	23
1.4.1	L'agriculture : un pollueur pollué	23
1.4.2	Les nouveaux usages des terres pour réduire la pollution d'origine agricole	24
1.4.3	Les COVs et les changements d'usages des terres en agriculture	25
1.5	Contexte et objectifs scientifiques de la thèse	27
2	Stratégie d'échantillonnage et méthodes analytiques et omiques	31
2.1	Les observatoires sur le long-terme en écologie	32
2.1.1	Les sites d'études	32
2.1.2	Caractérisation pédo-climatiques	35
2.1.3	L'échantillonnage des COVs sur le terrain	36
2.1.4	Expérimentations en conditions contrôlées : microcosmes et procé- dure d'échantillonnage des COVs	38

2.1.5	Analyses des COVs et du CO ₂	39
2.1.6	Étude des communautés microbiennes du sol	41
2.1.7	Extraction des acides nucléiques et séquençage	43
2.1.8	Analyses des séquences	43
2.1.9	Les descripteurs (diversité et richesse)	44
2.1.10	Analyse de données et traitement statistique	45
3	Pattern spatio-temporel des émissions de COVs dans les agrosystèmes	47
3.1	Contexte scientifique	48
3.2	Land-uses and practices in Agriculture result in specific soil VOCs emissions	51
3.2.1	Abstract	51
3.2.2	Introduction	52
3.2.3	Material and Methods	54
3.2.4	Results	59
3.2.5	Discussion	62
3.3	Organic amendment practices as possible drivers of biogenic Volatile Or- ganic Compounds emitted by soils in agrosystems	68
3.3.1	Abstract	68
3.3.2	Introduction	69
3.3.3	Methods	71
3.3.4	Results	78
3.3.5	discussion	84
3.3.6	Conclusion	89
3.3.7	Acknowledgements	90
3.3.8	Supplementary Information	91
4	Etude mécanistique des émissions de COVs par les sols	93
4.1	Contexte scientifique	94
4.2	The interaction between soil properties and bacterial communities drives the Volatile Organic Compounds spectrum emitted by soil	96
4.2.1	Abstract	96
4.2.2	Introduction	98
4.2.3	Materials and methods	99
4.3	Results	101
4.3.1	Discussion	105
4.3.2	Supplementary Information	108
4.4	Etude des liens entre la nature de la matière organique et les émissions de COVs par le sols	111
4.4.1	Contexte	111
4.4.2	Matériels et méthodes	112

4.4.3	Résultats et discussion	113
4.4.4	Conclusion	120
5	Synthèse générale et Perspectives	123
5.1	Synthèse générale	124
5.1.1	Motivation du travail	124
5.1.2	Les questions posées	125
5.1.3	Les stratégies mises en œuvre	125
5.2	Les avancées majeures	126
5.2.1	Le "type" profil de COVs émis par les sols	126
5.2.2	Spécificité des spectres de COVs émis par les sols	127
5.2.3	Émissions de COVs par les sols des agrosystèmes (lien avec la gestion des sols)	127
5.2.4	Le rôle des microorganismes dans la production de COVs	127
5.2.5	Relations Matières organiques des sols-COVs	128
5.3	Les perspectives et limites	128
5.3.1	Succession écologique	128
5.3.2	Volatilomiques	129
5.3.3	Les COVs et les nouvelles pratiques de gestion des sols	129
5.3.4	Les COVs et les cycles biogéochimiques	130
5.3.5	Les éléments paysagers puits/sources	131
5.3.6	Les questions émergentes suite à ces travaux	132
A	Les financements obtenus au cours de ce travail	157
B	Formations et valorisation durant la thèse	159

Chapitre 1

Introduction Générale

1.1 Les sources identifiées de COVs

Où que l'on soit sur la Terre, à chaque respiration, nous inhalons des Composés Organiques Volatiles (COVs ou VOCs en anglais). Ces COVs sont soit d'origine anthropique et sont rejetés dans l'air par les activités humaines, lors des procédés industriels par exemple, soit d'origine naturelle et liées à l'activité biologique de la biodiversité terrestre et marine. L'activité biologique est la source majoritaire de production de COVs, elle a été estimée par modélisation à $1150 \text{ Tg C an}^{-1}$ (Guenther et al., 1995). Sur ce flux

Les COVs sont définis, selon l'Article 2 de la directive 1999/13/CE du conseil européen du 11 mars 1999, comme tous composés organiques ayant une pression de vapeur de 0.01 kPa ou plus à une température de 293.15K (20°C).

En sachant qu'un composé organique désigne tout composé contenant au minimum un atome de carbone et un ou plusieurs des atomes suivant : hydrogène, halogènes, oxygène, soufre, phosphore, silicium ou azote, à l'exception des oxydes de carbone et des carbonates et les bicarbonates inorganiques.

Dans le cadre de cette étude, le méthane (CH_4) n'a pas été pris en compte dans les COVs mesurés comme il peut parfois l'être dans certaines études.

mondial annuel, 1000 Tg C par an sont estimés comme provenant des plantes (Laothawornkitkul et al., 2009). En comparaison, l'émission annuelle de carbone (C) sous forme de COVs par l'activité humaine est estimée par modélisation à 100 Tg C (WMO, 1995). Donc **l'activité biologique émet 10 à 11 fois plus de C sous forme de COVs que l'activité anthropique**. A titre de comparaison, les flux de dioxyde de carbone (CO_2) émis par les écosystèmes terrestres sont de $68 \pm 4 \text{ Pg C an}^{-1}$ (Rachi et al 1992). Les flux de C-COVs biogé-

niques représenteraient ainsi 1.7% des flux annuels estimés de C- CO_2 par les écosystèmes terrestres.

Dans l'atmosphère, les COVs sont présents à l'état de traces allant du ppb (partie par milliard ou part per billions (10^{-9})) au ppt (partie par mille milliard ou part per trillions (10^{-12})) dans l'atmosphère (Kesselmeier and Staudt, 1999). On peut donc se poser la question de l'intérêt d'étudier des molécules organiques en si faibles concentrations. Cependant, bien qu'en faibles abondances, les COVs sont impliqués dans de nombreuses problématiques environnementales d'importance mondiale telles que le changement climatique, la pollution atmosphérique et ses conséquences sanitaires pour l'homme comme pour le fonctionnement des écosystèmes. De plus les COVs appartiennent à de nombreuses familles chimiques, tels que les cétones, les aldéhydes ou encore les nitriles et jouent de ce fait un rôle dans le cycle du C et dans les cycles biogéochimiques qui y sont associés (cycle de l'azote en particulier)

1.1.1 Les émissions à l'interface océan-atmosphère

Les océans peuvent être considérés comme source ou puits de COVs (Chester, 1990). Par exemple, les océans ont une capacité à stocker le méthanol et l'acétone avec une estimation des vitesses de déposition respectives de 0.10 cm s^{-1} et 0.08 cm s^{-1} (Singh et al., 2003b). En effet, la surface des océans joue un rôle non négligeable dans le budget global des gaz organiques oxygénés à l'état de trace comme l'acétone (Singh et al., 2003a). Au sein de l'interface océan-atmosphère, les organismes photosynthétiques sont les producteurs principaux de COVs (Schall et al., 1997; Sinha et al., 2007). Par exemple, le niveau d'activité du phytoplancton est fortement corrélé aux flux de COVs oxygénés tels que l'acétone et l'acétaldéhyde (Sinha et al., 2007). Les productions de diméthyle sulfide et du couple diiodomethane et chloriodomethane ont été reliées à la présence de différents phytoplanctons, tel que *Prymnesiophyceae* (Orlikowska and Schulz-Bull, 2009).

Dans l'état actuel des connaissances, l'intérêt de production de ces COVs reste peu connu. Plusieurs hypothèses non exclusives sont avancées. Cette production de COVs pourrait servir aux phytoplanctons, 1) de voie de détoxification, en se débarrassant des composés nocifs oxydants tels que le peroxyde d'hydrogène (Manley, 2002), 2) de protection chimique (Laternus, 1996), 3) de moyens de défense contre l'herbivorie (Wolfe et al., 1997) ou les microorganismes pathogènes (Fenical, 1982), 4) d'hormone ou encore 5) à faciliter l'acquisition de ressources trophiques (Gribble, 2000).

De très grandes incertitudes, liées à un manque de connaissances, existent quant à l'estimation des flux de COVs émis par les océans. Par exemple, les estimations de flux totaux d'acétone varient de 37 à 148 Tg par an selon les études (Singh et al., 2004, 2000; de Laat et al., 2001; Jacob et al., 2002).

1.1.2 Les COVs émis par les végétaux

Dans le cas des écosystèmes continentaux, les émissions de COVs par la végétation sont bien connues et témoignent de différents processus. Une part de la production est due à la réponse adaptative des plantes face aux variations abiotiques et biotiques de leur environnement (Figure 1.1 et Figure 1.2). Une plante peut ainsi émettre des COVs pour réguler sa physiologie face à des variations climatiques. Par exemple, il a été montré qu'une augmentation de la température entraînait un stockage de l'isoprène dans les feuilles du chêne *Quercus alba*, ce qui conduisait à une diminution de l'émission foliaire de cette molécule (Singsaas and Sharkey, 1998). Or une augmentation de la concentration foliaire en terpènes, tels que l'isoprène, entraîne une meilleure protection de la plante aux dommages causés par les fortes températures (Peñuelas and Llusà, 2002).

Les plantes émettent également des COVs pour communiquer entre elles ou avec d'autres organismes. Les COVs qu'elles émettent peuvent ainsi servir à attirer les insectes pollinisateurs (Pichersky and Gershenzon, 2002). Par exemple les orchidées *Ophrys sphegodes*

émettent des alcanes et alcènes spécifiques qui attirent le mâle de l'hyménoptère *Andrena nigroaenea*, (Schiestl et al., 1999) favorisant la « pseudo-copulation » qui est le moyen de pollinisation de cette plante. A l'inverse, des COVs, appelés « green leaf volatiles », peuvent être produits par les plantes pour se défendre contre les insectes phytophages en attirant les prédateurs de ces derniers (Paré and Tumlinson, 1999; Pichersky and Gershenson, 2002)(Figure 1.1).

L'ensemble des processus d'émission des COVs par les plantes peut représenter jusqu'à 10% du carbone fixé par la photosynthèse (Llusià and Peñuelas, 2000; Peñuelas and Llusià, 2004).

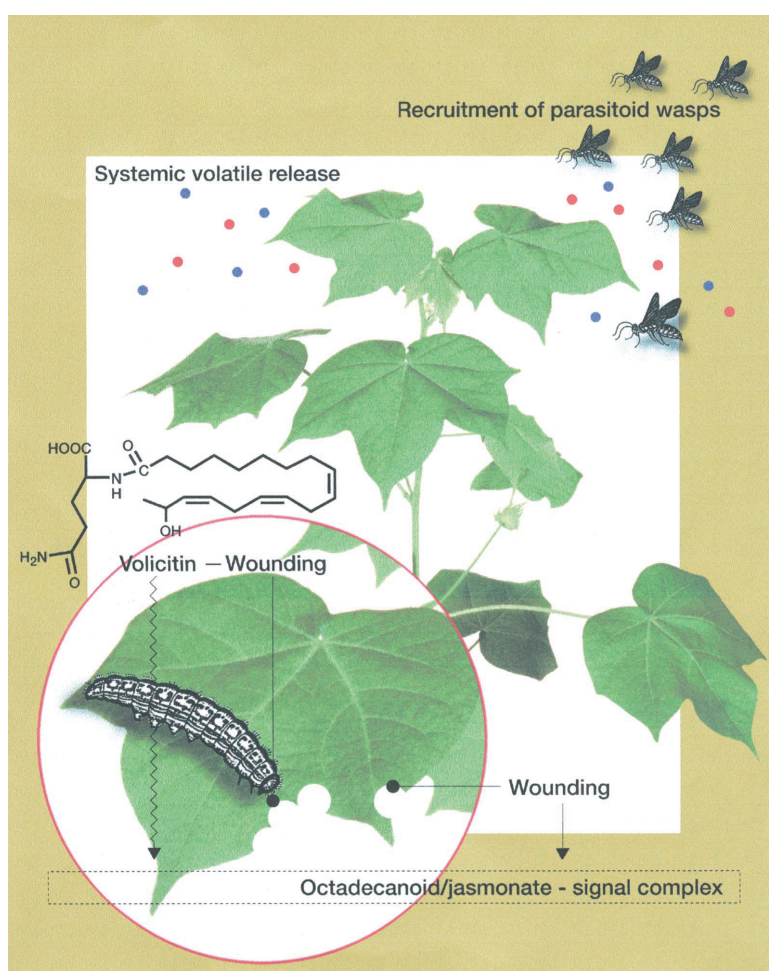


FIGURE 1.1 – Schéma d'un exemple de production de COVs par les plantes en réponse à la phytophagie des insectes. Les COVs ainsi émis servent de balise pour attirer les ennemis naturels de ces phytophages (ici, des guêpes parasitoïdes). (Extrait de Paré and Tumlinson (1999))

En termes de composition chimique, le spectre de COVs émis par une plante est extrêmement dépendant du type de plante, de son stade de développement et du stress et perturbations auxquels elle est soumise. Par exemple les spectres de COVs émis par du blé sont composés à 100% de COVs oxygénés (comme l'acétone) dont 47 % sont des es-

ters. A l'inverse, le spectre de COVs émis par les bouleaux est composé entre 83 et 95% de terpènes, comme l'isoprène (König et al., 1994). Le stade de développement (phénologie) modifie également les flux émis par une plante. C'est le cas du seigle, qui émet $77.4 \text{ ng.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ de terpènes lors de sa croissance et $25.6 \text{ ng.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$ lorsqu'il atteint l'épiaison (König et al., 1994). De plus, à l'échelle mondiale, la floraison peut aussi induire une surproduction de méthanol non négligeable, soit 100 Tg par an (Galbally and Kirstine, 2002).

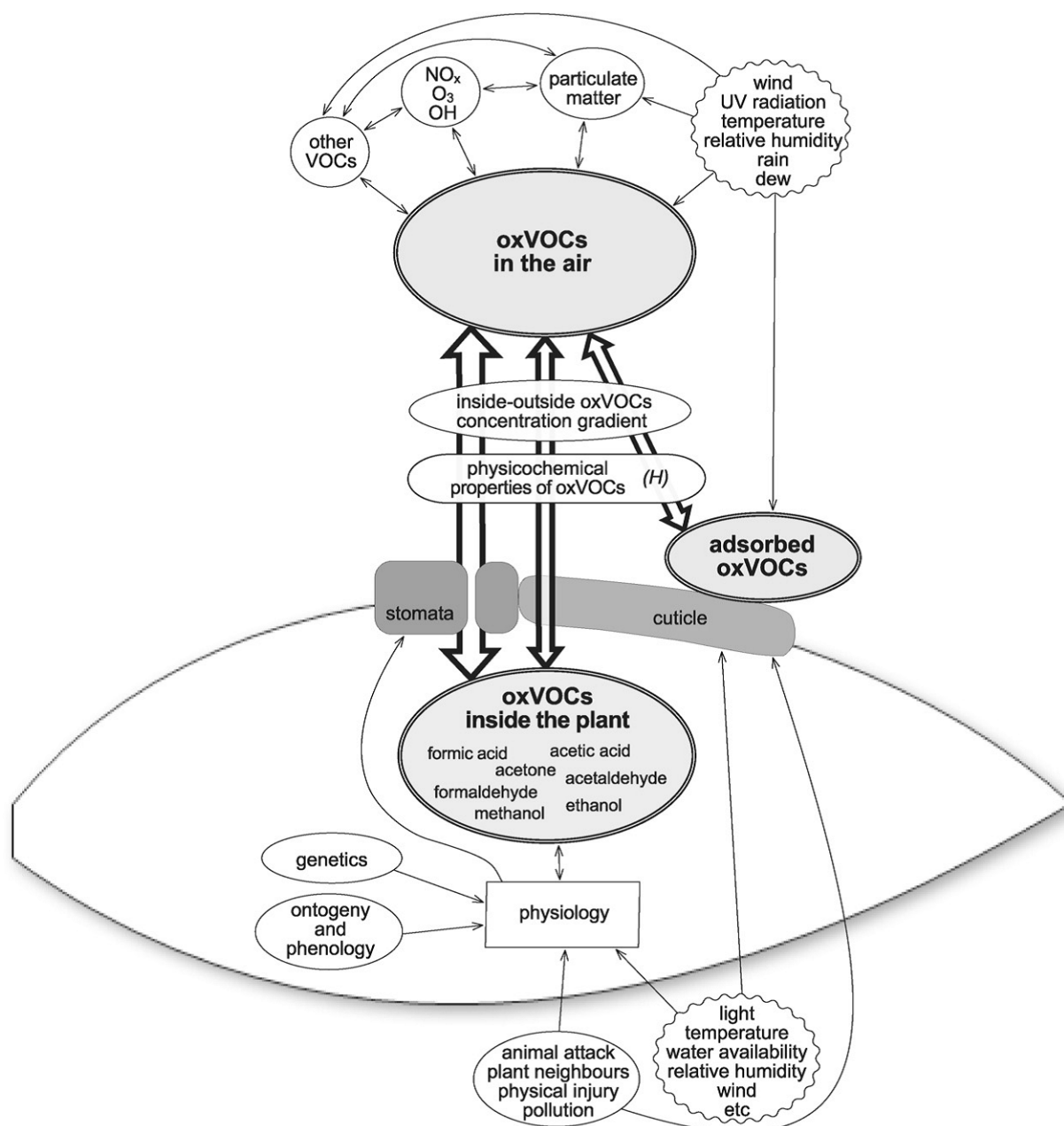


FIGURE 1.2 – Facteurs de régulation des émissions des COVs par les parties aériennes des plantes (Seco et al., 2007)

Il est reconnu que les plantes émettent des COVs via leurs parties aériennes, mais, dans

le sol, leur système racinaire est également producteur de ces molécules. En effet, dans les sols, les plantes communiquent entre elles ou avec d'autres organismes via les émissions de COVs racinaires (Figure 1.9), notamment dans des conditions de stress. Par exemple, des plantes non stressées par un manque d'eau peuvent percevoir, via les racines, un stress hydrique subi par des plantes voisines en émettant des COVs spécifiques (Falik et al., 2011) et ainsi modifier leurs métabolismes pour anticiper la réponse à ce stress. Dans d'autres cas les plantes émettent des COVs racinaires pour inhiber la croissance des plantes voisines. C'est le cas des échinacées (*Echinacea*) qui produisent des COVs racinaires ayant un effet allelopathique sur plusieurs espèces de plantes (Viles and Reese, 1996). Les plantes peuvent communiquer avec les microorganismes du sol pour stimuler la croissance de ceux qui leur sont favorables ou à l'inverse inhiber la croissance des pathogènes. Par exemple, il a été montré que les COVs racinaires exercent une action antimicrobienne qui inhibent la croissance des pathogènes des plantes (Huang et al., 2003; Cardoza et al., 2003). Notons que sur l'ensemble des COVs émis par les plantes, la moitié (en terme de flux de C) correspond à des terpènes dont le quart à des monoterpènes (Laothawornkitkul et al., 2009), de ce fait la majorité des études qui se sont intéressées aux COVs biogéniques est centrée sur ces composés.

1.1.3 Les COVs émis dans l'atmosphère par les activités humaines

La concentration en COVs dans les zones urbaines augmente à cause de l'industrialisation, de la combustion des énergies fossiles et de l'expansion des réseaux routiers (Barletta et al., 2005; Liu et al., 2008). Selon l'organisation de coopération et de développement économiques (OCDE), la provenance des COVs est fonction de l'industrialisation du pays et de ses moyens de transport. Ainsi en 1985, en Europe les COVs étaient émis à 42% par le transport, à 30% par les solvants industriels et les procédés chimiques, à 10% par les déchets de l'agriculture, le reste étant lié aux solvants non-industriels, à la combustion et à la chimie/pétrochimie.

Ailleurs dans le cas des mégalo-poles dont l'air est fortement pollué, telle que Nanjing (Chine) les émissions de COVs sont en moyenne (lissage sur une année) composées de 45.1% d'alcane, 25.3% d'alcènes, 7.3% d'alcynes et 22.3% de composés aromatiques (An et al., 2014). La concentration moyenne dans l'air de ces composés est d'environ 50 ppb avec une forte variation journalière et saisonnière (An et al., 2014). Notons quand même que les flux émis par la biosphère sont suffisamment importants pour que, même dans les villes, un flux non négligeable soit détecté en provenance des parcs végétalisés (Langford et al., 2009; Jordan et al., 2009), notamment pour les COVs oxygénés.

Dans les milieux urbains, les COVs sont souvent utilisés comme traceurs de leur source, par exemple le rapport de la concentration du benzène sur celle du toluène est utilisé

comme traceur du trafic urbain (Barletta et al., 2005). L'acétonitrile est lui considéré comme le meilleur traceur de la combustion de la matière organique (Lobert et al., 1990; Holzinger et al., 1999; Bange and Williams, 2000).

1.1.4 Les émissions de COVs à l'échelle des écosystèmes

Peu d'articles se sont intéressés directement aux flux totaux de COVs émis par les écosystèmes, il est néanmoins possible de les comparer¹ entre eux pour certaines molécules (tableau 1.1). La majorité des études étant centrée sur les émissions des forêts tempérées, méditerranéennes ou boréales, la cartographie complète des émissions à travers les écosystèmes est impossible.

Du fait de la multitude de paramètres qui varient entre les différents articles, tels que l'instrument de mesure ou la température ou qui sont diversement pris en compte, il est difficile de comparer et de hiérarchiser les flux entre eux. Néanmoins le tableau 1.1 permet de suggérer que les flux émis par les forêts de pin sont les plus importants. A l'inverse, les valeurs d'émissions d'isoprène par les océans sont faibles au regard des autres valeurs que l'on retrouve dans la bibliographie, avec une valeur de $0.12 \mu\text{g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. La position géographique influence les émissions, on observe ainsi un flux total de $84 \mu\text{g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ pour les landes de saules (*Salix*) dans le cercle arctique haut contre $205 \mu\text{g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ sur le cercle arctique bas. Les émissions les plus importantes, tout COVs confondus, ont actuellement été mesurées au sein de forêts de pin sur la période été-automne pour l' α -pinène avec une valeur de $936 \mu\text{g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Hors événement particulier, comme un épisode pluvieux, les flux d'acétone et de méthanol les plus importants ont été mesurés respectivement comme provenant d'un plancher forestier de pin et d'une culture de blé en maturation avec des valeurs respectives de $258 \mu\text{g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ et $533 \mu\text{g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Ces deux exemples démontrent que les émissions de COVs dépendent des usages des sols par l'Homme, ou autrement dit, que l'Homme via ses activités peut contrôler indirectement les émissions de COVs par les sols.

Un flux important, de $73 \mu\text{g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, d'acétaldéhyde a été mesuré en provenance de forêt de pin, mais à une température de 50°C . Les émissions de monoterpènes semblent très variables, avec des valeurs allant de $1.6 \mu\text{g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ à $423 \mu\text{g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$.

1. la comparaison nécessite la possibilité de transformer selon une même unité. Ici, c'est le $\mu\text{g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ qui a été choisi. Cette unité exclu donc toutes les valeurs de flux ramenées à une biomasse.

TABLE 1.1 – Flux moyen ou maximum de composés organiques volatils biogéniques (COVs) émis par les écosystèmes sur la base d’observations directes (in situ). Les flux ne sont pas normalisés par la température. (Modifié de Peñuelas et al. (2014))

Ecosystem	Season	VOC source	VOC type	Emission rate ($\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$)	Emission temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Method	Reference
Scots pine forest	Spring to autumn	Forest floor ^a	Ion <i>m/z</i> 137 monoterpenes (α -pinene)	936 ^b	28	Dynamic chamber/PTR-MS	Aaltonen et al. (2013)
Ponderosa pine plantation	Summer and autumn	Forest soil pulse after rain	Acetone	806 ^b	40	Dynamic chamber/GC-FID	Schade & Goldstein (2001)
Agricultural (cereal)	Summer	Bare soil	Methanol	533 ^a	31	EC/PTR-MS	Schade & Custer (2004)
Scots pine stand	Summer to autumn	Forest soil	Total monoterpenes	423 ^b	8	Variant of dynamic chamber/HSGC-FID	Ketola et al. (2011)
Scots pine forest	Spring to autumn	Forest floor ^a	Monoterpenes	373 ^a	NR	static chamber/GC-MS and FID	Hellen et al. (2006)
Ponderosa pine plantation	Summer and autumn	Forest soil	Methanol	267 ^b	36	Dynamic chamber/GC-FID	Schade & Goldstein (2001)
Ponderosa pine plantation	Summer and autumn	Forest soil	Acetone	258 ^b	55	Dynamic Chamber/GC-FID	Schade & Goldstein (2001)
Low arctic	Summer	Salix-heath	Total BVOCs	254	>10	Dynamic chamber/GC-MSD/DS	Lindwall et al. (2015)
Scots pine forest	Spring to autumn	Forest floor ^a	Monoterpenes	232 ^b	10	Static chamber/GC-ITD	Janson (1993)
Subarctic	Summer	plant/soil system	Total monoterpenes	219	>10	DEC/PTR-MS	Talpal et al. (2011)
Scots pine forest	Spring to autumn	Forest floor ^a	Methanol	194 ^a	30	Dynamic chamber/PTR-MS	Aaltonen et al. (2013)
Mediterranean shrubland	Winter to summer	Shrubland soil	Methanol	144	24	Dynamic chamber/PTR-MS	Aensio et al. (2008)
Low arctic	Summer	betula-heath	Total BVOCs	138	>10	Dynamic chamber/GC-MSD/DS	Lindwall et al. (2015)
Scots pine stand	Summer to autumn	Forest soil	Total monoterpenes	112 ^c	NR	Variant of dynamic chamber/HSGC-FID	Smolander et al. (2006)
Scots pine forest	Spring to autumn	Forest floor ^a	Acetaldehyde	101 ^b	NR	Dynamic chamber/PTR-MS	Aaltonen et al. (2013)
Hig arctic	Summer	Salix-heath	Total BVOCs	101	>10	Dynamic chamber/GC-MSD/DS	Lindwall et al. (2015)
Mediterranean shrubland	Winter to summer	Shrubland soil	Acetaldehyde	82	24	Dynamic chamber/PTR-MS	Aensio et al. (2008)
Agricultural (cereal)	Summer	Bare soil	Acetone	81 ^b	29.5	EC/PTR-MS	Schade & Custer (2004)
Scots pine forest	Spring to autumn	Forest floor ^a	Acetone	79 ^b	NR	Dynamic chamber/PTR-MS	Aaltonen et al. (2013)
Mediterranean shrubland	Winter to summer	shrubland soil	Ion <i>m/z</i> 73 (C ₁ and C ₂ carbon/Is, MEK)	78	25	Dynamic chamber/PTR-MS	Aensio et al. (2008)
Ponderosa pine plantation	Summer and autumn	Forest soil	Acetaldehyde	73 ^b	50	Dynamic chamber/GC-FID	Schade & Goldstein (2001)
Hig arctic	Summer	plant/soil system	Total BVOCs	60	>10	Dynamic chamber/GC	Schollert et al. (2014)
Hig arctic	Summer	Cassiope-heath	Total BVOCs	53	>10	Dynamic chamber/GC-MSD/DS	Lindwall et al. (2015)
Agricultural (maize)	Growing season	Agricultural floor	Methanol	~52 ^b	NR	DEC/PTR-MS	Bachy et al. (2016)
Norway spruce stand	Summer to autumn	Forest soil	Total monoterpenes	47 ^c	NR	Variant of dynamic chamber/HSGC-FID	Smolander et al. (2006)
Mediterranean shrubland	Winter to summer	Shrubland soil	Acetic acid	43	25	Dynamic chamber/PTR-MS	Aensio et al. (2008)
Agricultural (maize)	Growing season - germination	Bare soil	Methanol	~38	NR	DEC/PTR-MS	Bachy et al. (2016)
Sitka spruce plantation	Summer	Forest soil	Monoterpenes	~38 ^b	18	Dynamic chamber/GC-FID	Hayward et al. (2001)
Holm oak forest	Spring to winter	Forest soil	Ion <i>m/z</i> 57 (hexenal)	20	22.5	Dynamic chamber/PTR-MS	Aensio et al. (2007)
Mediterranean shrubland	Winter to summer	Shrubland soil	Formaldehyde	5.4	24	Dynamic chamber/PTR-MS	Aensio et al. (2008)
Scots pine forest	Spring to autumn	Forest floor ^a	Total monoterpenes	6.6	7.5	Dynamic chamber/GC-MS	Aaltonen et al. (2011)
Agricultural (maize)	Growing season - germination	Bare soil	Acetone	~4	NR	DEC/PTR-MS	Bachy et al. (2016)
Ponderosa pine plantation	Summer	Forest soil	Acetone	4 ^b	42	Gradient flux/PTR-MS	Greenberg et al. (2012)
Ponderosa pine plantation	Summer	Forest soil	Methanol	3 ^b	38	Gradient flux/PTR-MS	Greenberg et al. (2012)
Holm oak forest	Spring to winter	Forest soil	Monoterpenes	2	8	Dynamic chamber/PTR-MS	Aensio et al. (2007)
Scots pine forest	Spring to autumn	Forest floor ^a	Ethene, propane, propene, 2-methylpropene, <i>cis</i> -2-butene, pentane, hexane, heptane	<2 ^b	NR	Static chamber/GC-MS and FID	Hellen et al. (2006)
Silver birch stand	Summer to autumn	Forest floor	Total monoterpenes	1.6 ^c	NR	Variant of dynamic chamber/HSGC-FID	Smolander et al. (2006)
Ponderosa pine plantation	Summer	Forest soil	Acetaldehyde	1.7 ^b	42	Gradient flux/PTR-MS	Greenberg et al. (2012)
Agricultural (maize)	Growing season	Agricultural floor	Acetone	~1 ^a	NR	DEC/PTR-MS	Bachy et al. (2016)
Ponderosa pine plantation	Summer	Forest soil	Terpenes	0.35 ^b	32	Gradient flux/PTR-MS	Greenberg et al. (2012)
Ocean	Winter to spring	Surface ocean	Isoprène	0.12 ^d	3.25	GC-FID	Broadgate et al. (1997)

^aInclus la végétation de surface. ^bValeur maximum durant la période étudiée

^cValeur moyenne sur la période étudiée. ^d Dans le papier d'origine, le flux est de 1.7 molecules cm⁻² s⁻¹

GC-FID, gas chromatography with flame ionization detector; GC-MS, gas chromatography–mass spectrometry; HSGC-FID, headspace gas chromatography with flame ionization detector; ITD, ion trap detector; MEK, methyl ethyl ketone; NR, not reported; NS, not significant; PTR-MS, proton-transfer reaction mass spectrometry.

1.2 Les enjeux environnementaux liés aux COVs

1.2.1 Pollution de l'air : les COVs modifient la composition chimique de la troposphère

Selon un rapport conjoint de l'ADEME, du METS et de l'INRA , la pollution de l'air² découle d'un ensemble de phénomènes complexes liés notamment au fonctionnement du compartiment atmosphérique.

L'atmosphère est divisée en quatre couches d'épaisseur variable. Les limites entre ces couches ont été fixées selon les discontinuités de température en fonction de l'altitude (cf figure 1.3). En partant de la surface terrestre, l'atmosphère est composée par la troposphère (0-10 km), la stratosphère (10-30 km), la mésosphère (30-50 km) et la thermosphère (au-delà de 50 km d'altitude). La troposphère est la couche la plus dense et contient jusqu'à 75% de la masse de l'atmosphère.

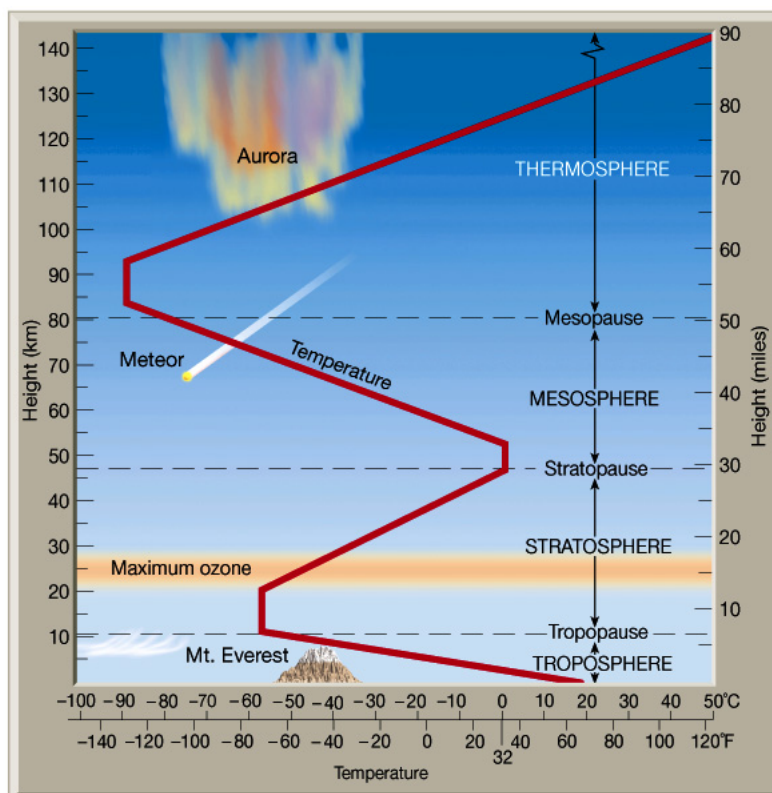


FIGURE 1.3 – Schéma des couches de l'atmosphère, délimitées selon la température en fonction de l'altitude. (source : <http://www.ux1.eiu.edu>)

Elle a une épaisseur comprise entre 8 et 16 km et c'est le siège de la majorité des réactions dans lesquels les COVs sont impliqués. Elle est composée à 78% d'azote et 21% de dioxygène. Le dernier pourcent est un mélange de plusieurs molécules qui vont réagir entre

2. La pollution de l'air est définie comme l'introduction dans l'atmosphère ou les espaces clos de substances susceptibles d'avoir des effets sur la santé humaine et sur les environnements.

elles : radicaux OH, oxydes d'azotes (NOx), aérosols organiques secondaires (AOS) et les COVs. Les COVs modifient ainsi la distribution de ces autres composés atmosphériques que sont les radicaux OH, les NOx ou encore les AOS (Atkinson and Arey, 2003b).

La réactivité des COVs avec les radicaux HOx

Les radicaux HOx (ou hydroxyls) sont les principaux détergents de l'atmosphère. Ils permettent la dégradation des nombreux polluants atmosphériques et regroupent les radicaux OH, HO₂ et l'ensemble des radicaux peroxydes organiques (RO₂). Le radical OH est l'oxydant majeur de l'atmosphère et contrôle directement le temps de vie des COVs et des NOx. Les radicaux peroxydes (HO₂, RO₂) assurent la conversion de NO en NO₂ et participent à la production d'ozone (O₃) (Figure 1.4). Les HOx constituent le moteur chimique de cette réaction. Il s'agit d'espèces extrêmement réactives (tout particulièrement OH), présentes à l'état de trace et associées à des temps de vie de l'ordre de la seconde. Ces espèces sont imbriquées dans un cycle (Figure 1.4) qui induit des réactions d'oxydation. Les HOx sont donc dans un état d'équilibre dynamique, cet équilibre étant régulé par le rapport entre les réactions sources (photolyse de O₃) (Finlayson-Pitts and Pitts, 1993) et les réactions puits de HOx (oxydation des COVs).

Mais en réagissant avec les radicaux hydroxyls, les COVs les mobilisent et les rendent indisponibles pour la dégradation de GES à fort pouvoir radiatif tel que le CH₄ par exemple et modifient l'équilibre précédemment décrit.

De plus en modifiant cet équilibre, les COVs jouent un rôle central dans la formation de l'ozone troposphérique (Chameides et al., 1988; Fuentes et al., 2000).

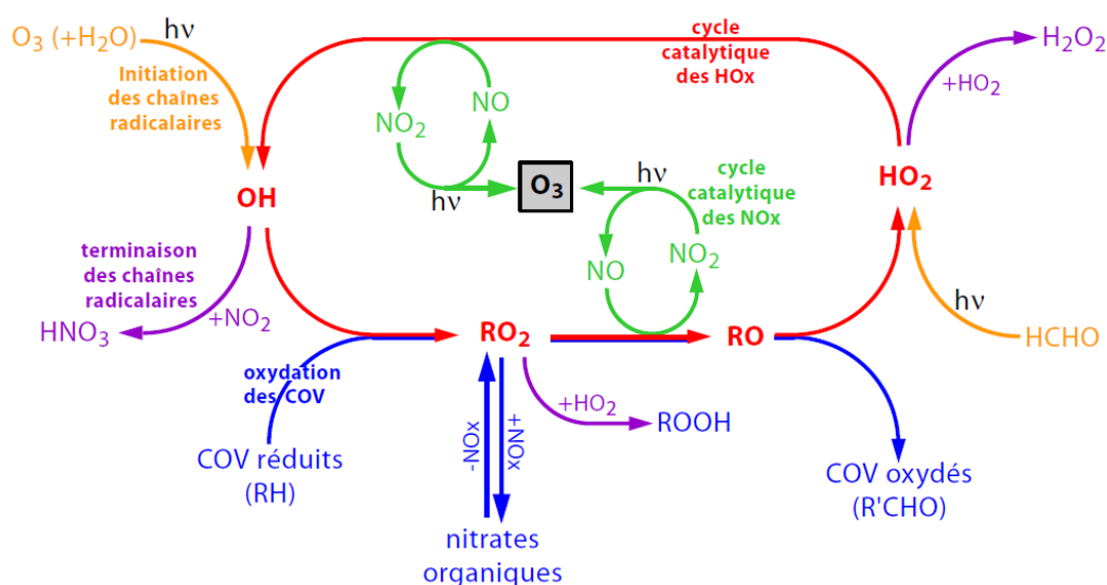


FIGURE 1.4 – Représentation schématique des principaux mécanismes impliqués dans la formation d'ozone troposphérique. Extrait de Camredon and Aumont (2007).

L'ozone est un polluant atmosphérique qui, lorsque présent en concentrations élevées dans les basses couches de la troposphère, est nocif pour la santé humaine, principalement par irritation des voies aériennes supérieures (Mudway and Kelly, 2000; Tager et al., 2005). De plus il s'agit d'un puissant gaz à effet de serre lorsqu'il est dans la troposphère et participe au forçage radiatif³ global à un niveau comparable au CH₄ et au N₂O (figure 1.5 & IPCC (2001)).

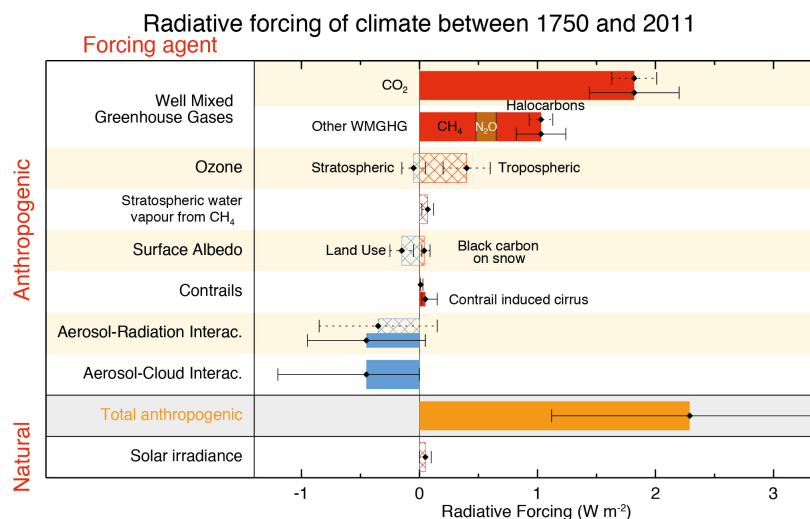


FIGURE 1.5 – Forçage radiatif (RF) du changement climatique au cours de l'ère industrielle. Le forçage par changement de concentration entre 1750 et 2011 figure avec la plage d'incertitude associée (les barres pleines sont le forçage radiatif effectif, les barres hachurées sont RF, les diamants verts et les incertitudes associées sont pour RF évalués dans AR4). Pour certains mécanismes de forçage (ozone, utilisation des terres, énergie solaire), le RF est supposé être représentative de l'ERF mais une incertitude supplémentaire de 17% est ajoutée en quadrature à l'incertitude RF. Extrait de "Climate Change 2013, WG1, figure TS-06."

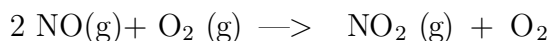
La réactivité des COVs avec les oxydes d'azotes (NOx)

Outre le fait que les NOx peuvent s'associer aux COVs pour former des oxydants photochimiques, tel que l'ozone troposphérique (Figure 1.4), leur distribution est influencée par la présence des COVs. Ainsi, les problématiques liées aux NOx le sont également aux COVs. Un oxyde d'azote (NOx) est un gaz hautement réactif formé d'azote et d'oxygène dans des quantités variables. Les NOx incluent par exemple, le monoxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO₂) qui font l'objet d'une surveillance et d'une réglementation au niveau européen (<http://www.airparif.asso.fr>).

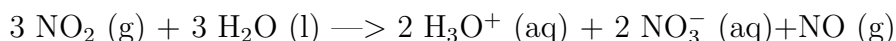
Les NOx ont un impact sur l'environnement et sur la qualité de l'air. Ils sont des précurseurs importants pour la formation des pluies acides et par conséquent en partie responsables de l'acidification des eaux douces. En effet, l'oxydation du NO peut se pour-

3. D'après la définition du GIEC, le forçage radiatif est l'équilibre entre le rayonnement solaire entrant et les émissions de rayonnements infrarouges sortant de l'atmosphère et se mesure en W/m²

suivre dans l'atmosphère pour former du NO_2 selon les équations chimiques suivantes :



Puis le NO_2 réagit avec l'eau pour donner une solution aqueuse d'acide nitrique H_3O^+ (aqueux) + NO_3^- (aqueux) et du NO :



Où :

- (g) = molécule à l'état de gaz
- (l) = molécule à l'état liquide
- (aq) = en milieu aqueux, sous la forme d'un ion qui a fixé un certain nombre de molécules d'eau

Les NO_x participent aussi à la formation des aérosols secondaires. Les NO_x sont aussi des précurseurs intervenant dans la formation de nitrates atmosphériques (rapidement solubilisés dans les eaux météoritiques qui sont alors rendues à la fois acidifiantes et eutrophisantes) selon la réaction $\text{NO}_2 + \text{O}_3 \longrightarrow \text{NO}_3 + \text{O}_2$ (Berhanu et al., 2012).

Pour finir, les NO_x ont un effet sur la santé humaine. Le NO_2 est considéré comme 40 fois plus toxique pour l'Homme que le monoxyde de carbone et 4 fois plus que le NO . Les NO_x pénètrent profondément dans les poumons et favorisent l'apparition d'asthme chez les enfants (Hwang, 2005).

La réactivité des COVs et des aérosols organiques secondaires (AOS)

Un aérosol est un ensemble de fines particules, solides ou liquides, en suspension dans un milieu gazeux. Il existe deux sources majeures d'aérosols organiques. Ils peuvent être produits soit lors des phénomènes de combustion (volcans, incendies de forêt), soit secondairement (on les appelle alors aérosols organiques secondaires) par photooxydation des COVs (Griffin et al., 1999b,a) tel que décrit dans la figure 1.6. La photooxydation atmosphérique des COVs conduit à la formation d'espèces moins volatiles, les composés organiques semi-volatiles (COsV). La nucléation ou la condensation, sur des particules préexistantes (poussière par exemple) de ces espèces entraîne la formation des AOS dans l'atmosphère. Par exemple, on sait que la photooxydation de plusieurs terpènes tels que les pinènes (α et β) ou l'ocimène produisent des AOS (Hoffmann et al., 1997).

Les aérosols sont impliqués à l'échelle planétaire et locale dans les phénomènes de pollution de l'air et d'allergies. Ils interfèrent également avec le climat et la physico-chimie de l'atmosphère.

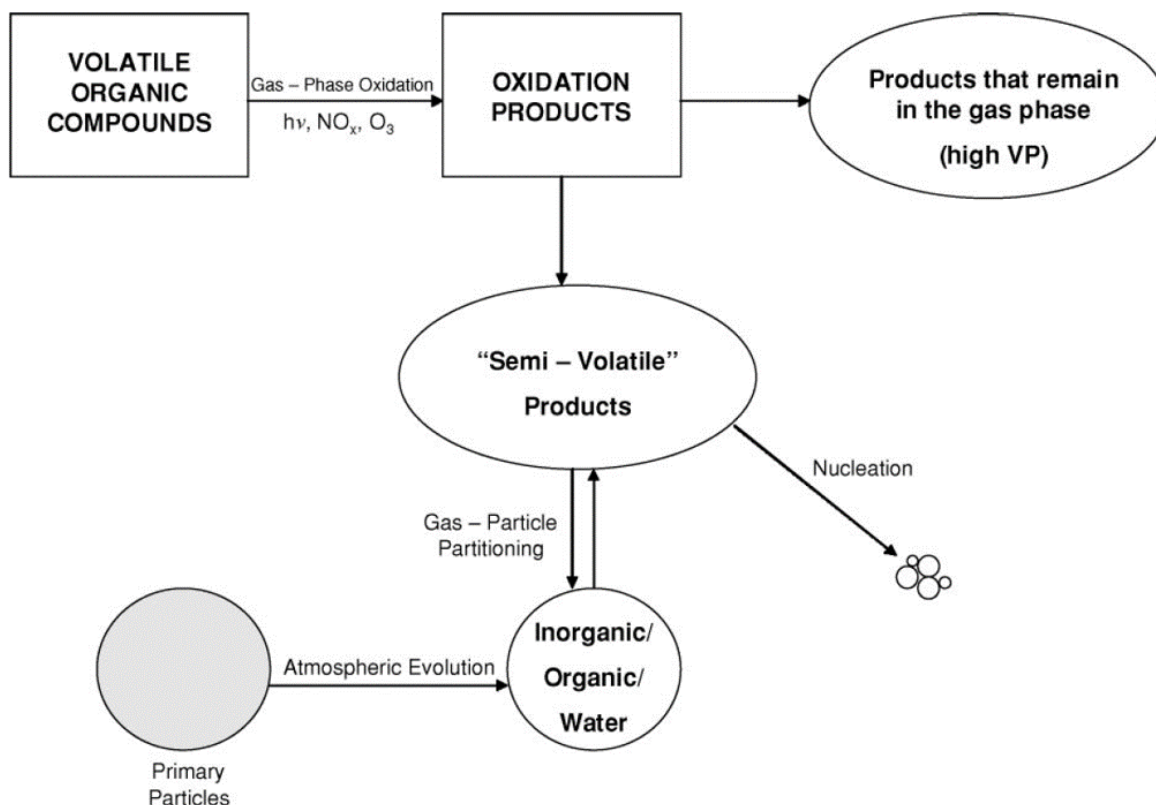


FIGURE 1.6 – Voies de formation des aérosols organiques secondaires. (Extrait de Seinfeld and Pankow (2003))

Premièrement, on sait que les AOS modifient la balance radiative de l'atmosphère. En effet ces aérosols réchauffent l'atmosphère en absorbant les rayons solaires (IPCC, 2001). De plus certains aérosols sont responsables de la déplétion de l'ozone stratosphérique. Or, la diminution de la couche d'ozone induit une augmentation de l'irradiation très énergétique provenant du soleil, en particulier les UV A et B, qui ont des effets cancérogènes et mutagènes sur le vivant (WMO, 1995). Deuxièmement, les aérosols soufrés induisent une nucléation des gouttes d'eau et produisent des nuages à des altitudes et des périodes de l'année où ils ne se seraient pas normalement formés. Ces nuages ainsi formés modifient l'albédo⁴ de la troposphère, ce qui impacte la température des couches supérieures de l'atmosphère (stratosphère par exemple). Par ailleurs, les aérosols ont un impact sur la santé humaine dans la mesure où ils peuvent induire des affections respiratoires, des risques de cancer du poumon (Naeher et al., 2007), ou des problèmes cardiovasculaires (Pope III et al., 2003). Ils entraînent de ce fait une augmentation de la mortalité (Katsouyanni et al., 2001) et l'intégralité des aérosols atmosphériques sont désormais considérés comme cancérogènes pour l'homme (OMS, 2003) .

4. l'albédo est le pouvoir réfléchissant d'une surface, soit le rapport entre l'énergie lumineuse réfléchie et reçue.

La synergie de ces réactions participe au réchauffement climatique

Toutes les réactions précédemment décrites entre les COVs et les composants atmosphériques sont couplées entre elles (Figure 1.7). Une fois dans la troposphère, les COVs vont donc participer à la formation d’ozone troposphérique et d’AOS. De plus en réagissant avec les radicaux OH, les COVs augmentent le temps de demi-vie du CH_4 dans la troposphère. L’ensemble de ces modifications induit un réchauffement du climat. L’augmentation de la température de l’air stimule, ainsi, la production de COVs biogéniques qui rétro-agissent sur la distribution des GES.

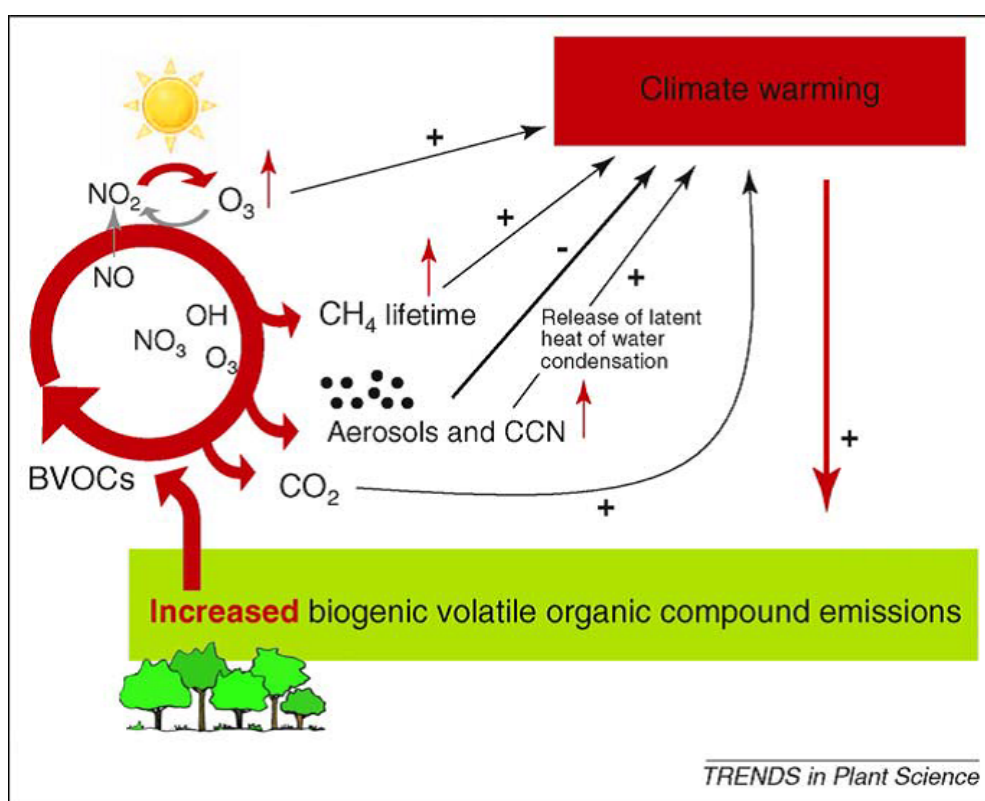


FIGURE 1.7 – Effets de l’augmentation des émissions de BVOC (COVs biogéniques) sur la chimie atmosphérique et le climat. CCN (cloud condensation nuclei) : Aussi connu sous le nom de graine de nuage, ce sont des petites particules (d’environ $0.2 \mu\text{m}$) qui offrent une surface sur laquelle l’eau condense, ce qui forme un nuage. Extrait de Peñuelas and Staudt (2009)

1.2.2 Rétroactions sur le fonctionnement des écosystèmes

En plus des effets indirects liés au changement climatique, les COVs, ou les produits de leurs réactions, impactent le fonctionnement des écosystèmes. La formation de l’ozone troposphérique est l’une des principales incidences des COVs sur les écosystèmes. L’élévation des teneurs en ozone troposphérique entraîne une diminution de l’assimilation du carbone par les plantes ce qui induit une perte de productivité des végétaux (Ainsworth, 2008; Ashmore, 2005; Ainsworth et al., 2012), et peut également entraîner des nécroses

(Figure 1.8) allant jusqu'à la sénescence de certaines feuilles. A l'échelle mondiale, cette perte de productivité est estimée pour le blé et le riz entre 14 et 26 milliard de dollars (\$) d'ici 2030 en fonction des scénarii utilisés (Van Dingenen et al., 2009). Les forêts et les écosystèmes naturels sont également impactés par les fortes concentrations en ozone (Wittig et al., 2009; Hayes et al., 2007), ce qui a des retombées sur la qualité des services écosystémiques qui leur sont liés.



FIGURE 1.8 – Nécroses dues à l'augmentation des teneurs troposphériques en ozone sur une feuille de tabac. Source : <https://www.airparif.asso.fr/>

Une boucle de rétroaction a également lieu, car l'ozone modifie la composition des spectres et les flux de COVs émis par les végétaux (Llusà et al., 2002). Les COVs étant utilisés dans plusieurs processus de communication entre les organismes (plantes, insectes, microorganismes,...), cela suggère que cette modification peut avoir une répercussion en cascades non identifiée à ce jour sur l'ensemble de l'écosystème.

D'un point de vue de la loi, il n'existe de nos jours aucune réglementation sur les émissions de COVs biogéniques, car les connaissances sur les mécanismes des émissions sont trop fragmentées. Et pourtant leur implication dans l'augmentation des teneurs en ozone troposphérique est non négligeable, et l'exposition à cette molécule concerne l'ensemble du territoire et les impacts sont aggravés par les pics d'ozone et l'augmentation de son niveau de fond (source : programme PRIMEQUAL 2015).

1.3 Les sols : une source de COVs biogéniques sous-estimée

Actuellement, les plantes sont considérées comme les producteurs majoritaires de COVs (Stotzky and Schenck, 1976; Kesselmeier and Staudt, 1999; Kesselmeier et al., 2002) ; c'est par exemple le constat que font Guenther et al. (1995) pour qui, entre 10 et 20% du flux

total de COVs émis par la surface continentale de 1150 Tg C serait dû aux sols de culture, aux prairies et aux forêts non tropicales. Les synthèses bibliographiques (Peñuelas and Staudt, 2009) réalisées sur les impacts des COVs biogéniques sur les changements climatiques n'abordent que très rarement les COVs émis par les sols. Or, des auteurs (Bachy et al., 2016) ont récemment discuté de la surestimation probable des flux émis par les plantes vis-à-vis des sols. Ces auteurs ont comparé les émissions de COVs à l'échelle de l'agrosystème sur une année de croissance végétale allant du sol nu jusqu'aux plants de maïs fructifié et ont montré que l'ordre de grandeur d'émission était le même soit par exemple une moyenne de $27 \mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$ pour le méthanol. Cela suggère que le sol pourrait être une source majeure et sous-estimée de COVs dans les agrosystèmes. Cette contradiction provient du fait qu'actuellement les études sur les COVs émis par les écosystèmes (table 1.1) sont majoritairement centrées sur les terpènes, isoprènes, monoterpènes et sesquiterpènes (Harley et al., 1999; Hayward et al., 2001; Solmon et al., 2004; Asensio et al., 2007b, 2008; Tiiva et al., 2008; Ludley et al., 2009), qui sont des composés peu émis par les sols. De plus, dans ces études, lorsque les auteurs s'intéressent à d'autres COVs, ces derniers sont regroupés sous le terme de « other VOCs » dont l'identification moléculaire n'est pas systématiquement précisée (Laothawornkitkul et al., 2009).

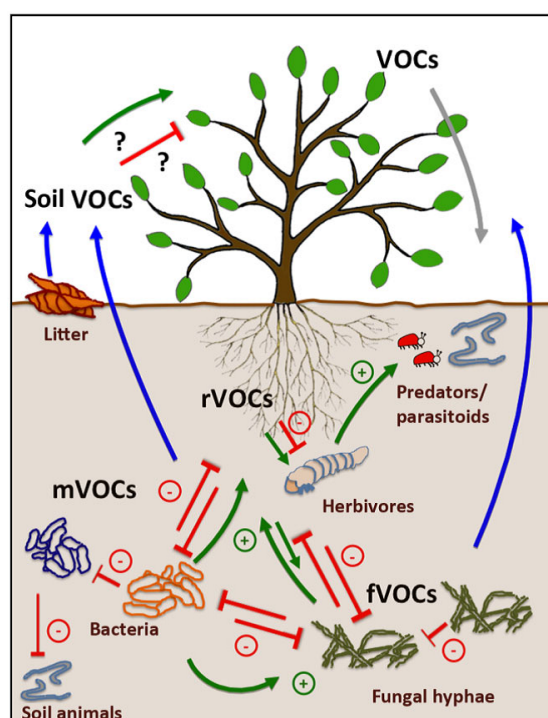


FIGURE 1.9 – Représentation des émissions des COVs et des interactions biotiques dans les sols. Les COVs du sol (flèches bleues) sont émis par les bactéries (mVOCs), les champignons (fVOCs), les racines (rVOCs) et la litière (bVOC). Les effets négatifs directs (par exemple l'inhibition de la croissance, la toxicité) des COV sont indiqués par des flèches rouges. Les effets positifs directs et indirects sont indiqués par les flèches vertes (Extrait de Peñuelas et al. (2014))

1.3.1 Les facteurs abiotiques et biotiques de régulation de la production de COVs dans les sols et leurs émissions par les sols

Les microorganismes du sol : acteurs majeurs de la production de COVs

Dans les sols, les microorganismes sont les acteurs majeurs de la production de COVs. Cette production est liée à plusieurs processus regroupés en deux voies majeures (figure 1.9) :

- Une première voie de production des COVs est liée à la **biodégradation incomplète des matières organiques du sol (MOS) par les microorganismes** (Stahl and Parkin, 1996; Leff and Fierer, 2008). Une modification de l'habitat microbien peut induire des changements dans les voies métaboliques microbiennes mobilisées et donc des modifications dans les COVs produits. Par exemple, dans le cas d'un sol qui devient saturé en eau, les microorganismes du sol passent d'un système aérobie à anaérobie ce qui empêche la dégradation complète de la matière organique présente dans l'environnement. C'est le cas pour la production d'éthanol. Par exemple, la figure 1.10 présente l'ensemble des voies métaboliques aboutissant à la production d'hexanol, d'isopropanol et de butanol, dans le cas de la dégradation de l'hémicellulose et de la cellulose. Dans cette représentation, on peut voir qu'un manque d'oxygène (comme dans le cas d'un sol engorgé en eau) bloque la voie métabolique au niveau du pyruvate et augmente la production d'éthanol. C'est ce qui est observé par Ahring et al. (1999) lorsqu'un champignon, *Thermoanaerobacter mathranii*, dégrade l'hémicellulose de la paille de blé en anaérobie.

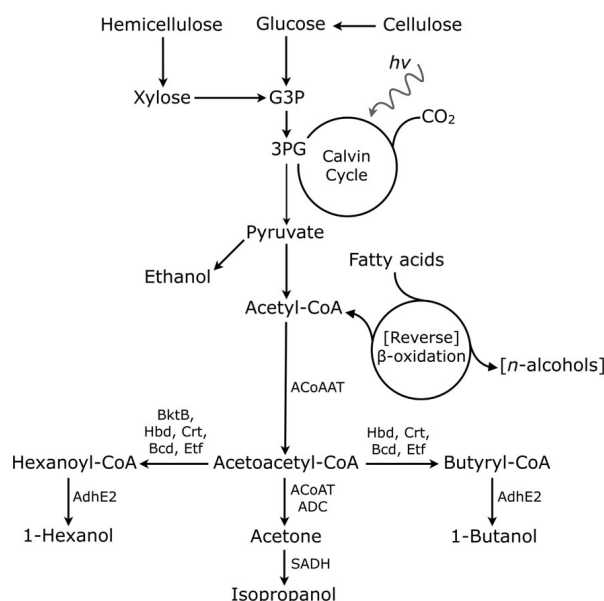


FIGURE 1.10 – Représentation des voies métaboliques dépendantes de la CoA pour la production de biofuel. D'après Lamsen and Atsumi (2012)

De plus, la coopération entre deux microorganismes, tel que *Fusarium oxysporum* et *Saccharomyces cerevisiae*, peut augmenter la production de COVs (éthanol ici) lors de la dégradation de paille de blé (Panagiotou et al., 2011). Dans le cas de la production de COVs par la biodégradation des MOS, la qualité du substrat va également réguler le spectre de COVs produit. Ainsi, pour une même communauté microbienne, le type de litière disponible à la dégradation peut permettre de prédire certains COVs qui seront libérés (Gray et al., 2010; Leff and Fierer, 2008; Isidorov and Jdanova, 2002). De plus l'état de dégradabilité d'un substrat organique influence également le spectre de COVs produit par les microorganismes. Ainsi celui-ci évolue aux cours de la décomposition d'une litière qui devient de plus en plus récalcitrante au fur et à mesure que la biodégradation progresse (Gray et al., 2010).

- La deuxième voie de production de COVs est **relative aux processus de communication microbienne** (Wheatley, 2002) au sein des communautés **notamment** dans un contexte de compétition. Elle est illustrée par l'ensemble des flèches vertes et rouges de la figure 1.9.

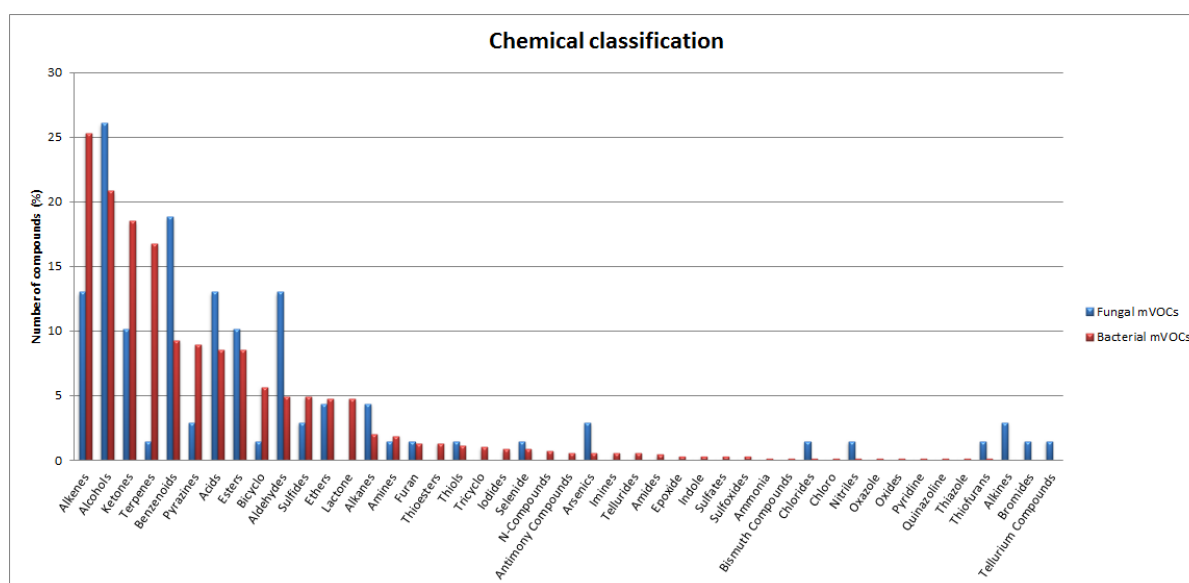


FIGURE 1.11 – Histogramme représentant la distribution des familles chimiques des COVs produits par les champignons et les bactéries. (Lemfack et al., 2014).

Un même microorganisme est capable de produire une large gamme de COVs. Par exemple les streptomycètes sont capables de produire jusqu'à 80 COVs différents en conditions de laboratoire (Dickschat et al., 2005). L'intérêt pour un microorganisme d'être capable de produire autant de COVs différents est cependant encore incompris, certains auteurs relient cette capacité à l'adaptabilité des microorganismes vis-à-vis de leurs environnements. Par exemple, des auteurs (Fernando et al., 2005) ont relié la production de certains COVs, tels que le diméthyle trisulfide, par des *Pseudomonas* lorsqu'en présence du champignon *Sclerotia* dans leur voisinage. Ces bactéries ont une croissance réduite en présence de ce

champignon et le diméthyle trisulfide est connu pour avoir des propriétés antifongiques. Ce processus d'inhibition est suffisamment spécifique pour que le COVs produit change en fonction des organismes cibles (Bruce et al., 2003). De nombreux composés sont connus, notamment les cétones, pour avoir un effet inhibiteur spécifique (Bruce et al., 2004). Cependant les COVs ne font pas qu'inhiber la croissance des champignons, ceux produits lors de la dégradation du glucosinolate (présent dans les tissus des *Brassicaceae*), tels que le diméthyle sulfide, inhibent les communautés bactériennes nitrifiantes du sol (Bending and Lincoln, 1999, 2000). Les COVs ne sont pas uniquement utilisés dans la communication entre microorganismes mais peuvent être utilisés pour communiquer avec d'autres organismes. Précédemment, nous avons vu que les plantes communiquent avec les microorganismes par le biais des COVs. Cette relation est à double sens, en effet les microorganismes peuvent influencer la fitness des plantes par le biais des COVs émis. Les COVs peuvent par exemple augmenter la production d'huile essentielle (Santoro et al., 2011), la croissance des plantes (Ryu et al., 2003) ou encore leur résistance à certains pathogènes (Ryu et al., 2005). Il y a un effet spécifique des COVs sur la plante et selon le COVs produit par un microorganisme donné, l'effet sur la plante peut être totalement différent. Par exemple, en laboratoire on peut aller de la mort de *Arabidopsis* à une augmentation très importante de sa biomasse (Blom et al., 2011) en fonction du type de COVs perçu. Les auteurs précisent, également, que l'effet des COVs sur *Arabidopsis* dépendait du milieu de croissance des bactéries et de leur concentration. Pour finir, certains COVs ne sont libérés que lors de la rupture des cellules microbiennes, ce qui peut attirer des bactériophages par exemple (Höckelmann et al., 2004).

Il existe une spécificité entre le spectre de COVs émis et les microorganismes producteurs. Par exemple, Lemfack et al. (2014), à travers une base de données recoupant de nombreuses références (Figure 1.11), ont montré que les bactéries émettent par exemple plus de COVs de la famille des alcènes et à l'inverse que les champignons émettent plus de COVs de la famille des aldéhydes. Il existe, en effet des relations assez spécifiques entre les COVs et certains organismes pour que ces molécules puissent servir de traceur. Par exemple, en fonction du spectre de COVs émis durant différentes étapes de compostage, il est possible de savoir si le processus est contaminé par des microorganismes autres que ceux désirés (Smet et al., 1999). Il est même possible de détecter la croissance des moisissures en fonction de l'émission des terpènes (Wilkins et al., 2000). D'autres auteurs ont montré qu'il était possible de différencier, par le spectre de COVs émis, les fonctions écologiques de plusieurs champignons (Müller et al., 2013).

La régulation abiotique de la production des COVs dans les sols

Les microorganismes sont producteurs de COVs soit en dégradant les MOS, soit pour communiquer avec les autres organismes de leur environnement (molécules signal). Ainsi, leur production dépendra des MOS dégradées et de tous les paramètres biotiques

et abiotiques (pH, humidité du sol, température...) qui régulent les communautés microbiennes et leurs interactions.

Ainsi, quelle que soit la communauté microbienne, la production de COVs dépend de la disponibilité en nutriments et en oxygène. La disponibilité en **oxygène** va réguler le type de COVs produit en fonction de l'efficacité de la respiration. Dans des conditions aérobies, la source de carbone est généralement transformée totalement en CO_2 et en énergie. La majeure partie de cette énergie est utilisée pour la croissance cellulaire et une petite part pour la production de métabolites secondaires dont certains sont des COVs. En conditions de micro-aérobie ou d'anaérobie une part plus importante de la source de carbone est présente dans les produits du métabolisme primaire. C'est par exemple le cas de la fermentation alcoolique. C'est pourquoi en laboratoire, sous conditions anaérobies la diversité en COVs émis est plus importante qu'en conditions aérobies (Stotzky and Schenck, 1976; Seewald et al., 2010). Outre la présence ou non d'oxygène, la qualité et la disponibilité des nutriments pour les microorganismes va également conditionner le spectre de COVs qu'ils émettent (Stotzky and Schenck, 1976; Blom et al., 2011).

Une très faible variation dans la qualité des **nutriments** peut entraîner des changements significatifs du spectre de COVs émis (Wheatley et al., 1997). Par exemple le type et la quantité de COVs produits par des champignons suite à un apport d'azote est différent selon que l'apport soit sous forme de KNO_3 ou de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Wheatley et al., 1996).

Le pH du sol agit également sur la disponibilité des nutriments, sur l'état physiologique des microorganismes et sur la composition des communautés (Stotzky and Schenck, 1976). De plus, la température a un effet important sur la biodégradation des MOS et donc la production de COVs. L'augmentation de la température permet aux microorganismes de dégrader des molécules dites stables, auxquelles ils n'ont pas accès lorsque la température est plus faible (Bosatta and Ågren, 1999; Davidson and Janssens, 2006; Sierra, 2012). La température influence donc sur la qualité de la matière organique dégradée, or on sait que **la qualité du substrat dégradé modifie le spectre de COVs**.

Les mécanismes biotiques et abiotiques régulant le stockage des COVs dans les sols

Avant leur émission dans l'atmosphère, les COVs produits par les microorganismes se retrouvent dans l'espace poreux du sol où plusieurs mécanismes de régulation biotique (consommation microbienne) et abiotique vont intervenir avant leur émission dans l'atmosphère.

En effet, les COVs produits dans le sol par les microorganismes ou plantes peuvent aussi servir de source de carbone pour d'autres microorganismes (Zak et al., 1994; Gramss and Bergmann, 2008). Par exemple, en laboratoire, certains microorganismes peuvent se

développer avec des COVs comme seule source de carbone. C'est le cas de *Pseudomonas fluorescens* et *Alcaligenes xylosoxidans* qui peuvent utiliser l' α -pinène comme seule source de Carbone (Kleinheinz et al., 1999). De plus, Gramss and Bergmann (2008) ont observé que les COVs pouvaient être une source de carbone significative dans les sols pauvres en facilitant la croissance de certains *basidiomycetes*. On sait que le méthanol et quelques monoterpènes, produits largement par les organismes du sol, sont facilement dégradés par les microorganismes du sol (Novak et al., 1985). A l'inverse, la dégradation de COVs de synthèses tel que l'arbanol ou le plinol semble être difficile voir impossible pour des communautés microbiennes en laboratoire (Misra et al., 1996).

Les COVs ainsi consommés ne sont pas détectables par les mesures de flux d'émissions et ne sont donc pas quantifiés dans les flux de C-COVs. De ce fait les COVs peuvent être considérés comme une boîte noire du cycle du carbone dans les sols.

L'influence du compartiment abiotique sur les émissions de COVs passe par la régulation de l'état, gazeux ou liquide, des COVs et les mécanismes d'adsorption.

En effet, une fois dans l'espace poral du sol, la température du sol va réguler l'état, liquide ou gazeux, sous laquelle les COVs se trouvent. Ainsi certains COVs auront besoin d'une température plus importante que d'autres pour être sous forme gazeuse et être émis dans l'atmosphère (Schade and Custer, 2004). De plus, le pH régule également la pression de vapeur des COVs, en déterminant la charge des composés acides et alcalins selon leur valeur isoélectrique, ce qui influence leurs émissions du sol vers l'atmosphère.

Les mécanismes d'adsorption sont principalement influencés par la texture du sol. En effet, les COVs peuvent s'adsorber sur les minéraux et sur la MO (Ruiz et al., 1998; van Roon et al., 2005). Un COV ainsi adsorbé pourra par la suite se désorber en fonction des conditions édaphiques (Morrissey and Grismer, 1999). La granulométrie des minéraux influence la capacité d'adsorption des COVs sur ces derniers. Ainsi, l'argile est le minéral avec la plus forte capacité d'adsorption et le sable la plus faible (Petersen et al., 1995; Morrissey and Grismer, 1999; Breus et al., 2014; Ruiz et al., 1998). De plus, l'humidité de l'air du sol influence la capacité d'adsorption en fonction de la famille chimique du COV, ainsi l'hydratation du sol inhibe l'adsorption des hydrocarbures et augmente celle du méthanol (Morozov et al., 2014). Le type de COV a aussi un rôle dans le phénomène d'adsorption/désorption des COVs, notamment pour les composés polaires qui sont mieux retenus que les molécules aliphatiques et aromatiques (Ruiz et al., 1998).

1.3.2 Le climat régule les flux bidirectionnels des COVs à l'interface sol-atmosphère

Pour finir les échanges de COVs à l'interface sol-atmosphère dépendent de processus physiques/climatiques (diffusion et advection) qui s'appliquent à tous les gaz.

Les flux de COVs à l'interface sol atmosphère sont bidirectionnels, allant soit du sol vers l'atmosphère, on parle alors d'émission, ou soit de l'atmosphère vers le sol on parle alors de déposition. **La diffusion et l'advection sont les deux mécanismes qui régulent les échanges gazeux entre le sol et l'atmosphère.** La diffusion est régulée par le gradient de concentration d'une molécule donnée entre le sol et l'atmosphère, c'est le mécanisme dominant dans les sols non saturés (Scanlon et al., 2002; Rolston and Moldrup, 2012). Le principe est le suivant : un gradient de concentration s'établit entre deux zones, lorsqu'une molécule chimique est dans des concentrations différentes, les molécules se déplacent ensuite, selon la loi de Fick, de la région la plus concentrée vers la moins concentrée. Dans ce cas, la diffusion des gaz dans le sol vers l'atmosphère est régulée par le coefficient de diffusion gazeuse (D_p) qui est fortement contraint par les propriétés physiques du sol dont nous venons de parler.

L'advection est quant à elle régulée par le gradient de pression qui découle des changements de la pression barométrique, de la température, de la teneur en eau du sol et du vent à la surface du sol (Scanlon et al., 2002; Rolston and Moldrup, 2012). Une étude récente complète ces informations en précisant que le vent semble être le facteur principal pour estimer les flux entre le sol et l'atmosphère des composés à l'état de trace (Redeker et al., 2015), car un fort vent peut avoir un effet visible sur le flux jusqu'à deux heures après son passage.

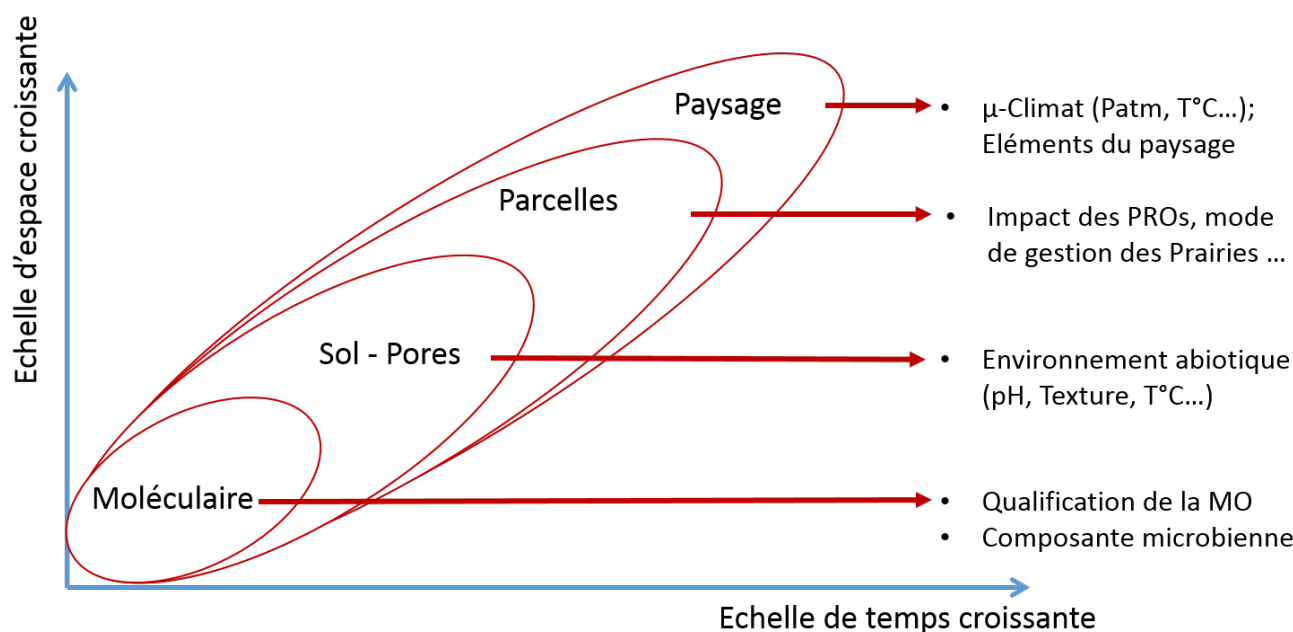


FIGURE 1.12 – Représentation simplifiée de l'intégration spatio-temporelle des processus et caractéristiques régulant la production et/ou les émissions de COVs.

1.3.3 L'intégration spatio-temporelle des émissions de COVs à l'interface sol-atmosphère

Ici, les mécanismes et processus liés à la production de COVs ont été séparés et présentés les uns après les autres, mais il faut prendre en compte que l'ensemble de ces facteurs s'intègrent dans un même contexte spatio-temporel (Figure 1.12). En effet, la production de COVs est régulée à l'échelle moléculaire par la composante microbienne, puis à une échelle plus grande, l'environnement édaphique va réguler l'activité des microorganismes. Cet environnement édaphique est lui-même influencé par les pratiques agricoles et usages des terres qu'il subit. Or les pratiques agricoles sont elles-mêmes déterminées par le paysage et le climat. Par exemple, vis-à-vis du stress hydrique, les pratiques agricoles ne sont pas les mêmes en Bretagne, où la pluviométrie est suffisante pour les cultures, que dans le sud de la France où l'irrigation est régulièrement pratiquée. De ce fait, une modification sur un de ces compartiments peut avoir un effet sur l'ensemble par réaction en chaîne (Figure 1.12).

1.4 Agriculture et pollution de l'air : des enjeux sociaux économiques

1.4.1 L'agriculture : un pollueur pollué

L'agriculture contribue aux émissions de polluants atmosphériques, mais en est également victime. Aux côtés des secteurs domestiques, industriels et des transports, l'agriculture émet des polluants (NH_3 , NO_x , COVs, SO_x) et des particules primaires. Une fois émis, les polluants atmosphériques vont être transportés et transformés, en ozone troposphérique par exemple, puis déposés plus ou moins loin de leur source (Figure 1.13). La distance parcourue est liée au poids moléculaire du polluant, mais aussi à la force du vent au moment de l'émission. Les dépôts atmosphériques entraînent une dégradation de la production et de la qualité des produits agricoles, et affectent les équilibres écologiques des écosystèmes (source : ADEME). C'est pourquoi, en 2010, le ministère de l'Ecologie a considéré l'agriculture comme concernée par le Plan Particules. Les émissions de polluants atmosphériques agricoles sont liées aux pratiques d'élevages et aux pratiques culturales (source : ADEME). Ces émissions peuvent être soit ponctuelles, lors de stockages de lisier par exemple, soit diffuses dans les cas des émissions liées aux prairies ou aux cultures. Les émissions diffuses, bien que plus faibles, sont significatives car elles ont lieu sur de grandes étendues. De plus elles sont très sensibles aux conditions climatiques et au type de sol, rajoutant une variabilité spatiale et temporelle qui rend les prévisions difficiles (§1.3). Néanmoins la pluralité des sources et l'hétérogénéité des émissions diffuses induisent des possibilités spécifiques et de nombreux leviers d'action propre à chaque source. Des ac-

tions, possédant un potentiel variable, sont déjà engagées sur les techniques d'élevage ou de culture et mises en œuvre sur le terrain. Ces actions, font par ailleurs l'objet de tests et d'expérimentations financés entre autre par l'ADEME.

Dans le cas des pesticides, les émissions associées à leur épandage ne sont pas réglementées en France. Seule leur mise sur le marché est contrôlée et fait l'usage de recommandations, notamment dans le cadre du plan Ecophyto II.

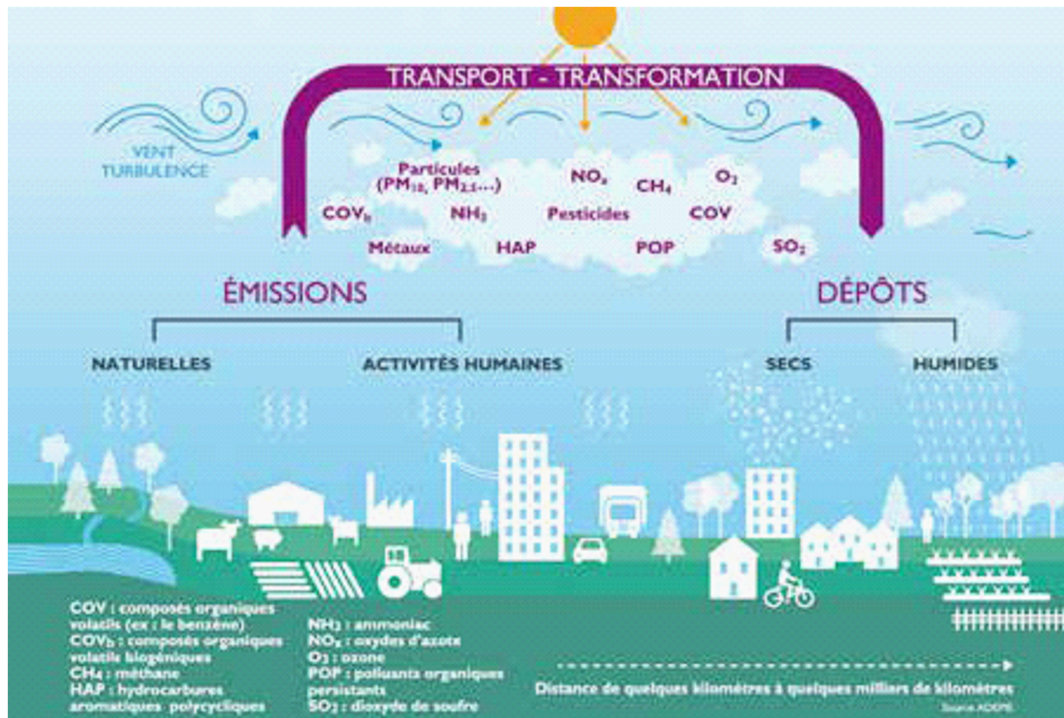


FIGURE 1.13 – Émissions, transport, transformation, dépôts : la pollution de l'air est le résultat d'un ensemble de phénomènes complexes (Source : ADEME)

1.4.2 Les nouveaux usages des terres pour réduire la pollution d'origine agricole

Mettre en place de nouvelles mesures dans le cadre de thématiques aussi nouvelles que la pollution de l'air, nécessite une collaboration entre les producteurs de connaissances et le monde agricole. Cela est d'autant plus vrai que la pollution de l'air n'est pas visible (hors période de pic de pollution) et que les effets visibles sur la santé sont généralement observés à plus ou moins long-terme. C'est pourquoi, dans le début des années 2000, l'ADEME a commandité plusieurs synthèses et états de l'art sur les relations entre la pollution de l'air et les pratiques agricoles. D'après ces états de l'art, les pratiques agricoles listées ci-dessous sont considérées actuellement comme des leviers pour gérer les émissions de polluants atmosphériques :

- **Travail du sol** - Il est recommandé de diminuer la profondeur du labour mais aussi le nombre de passage (minimum tillage ou zero-tillage)

- **Fertilisation** - L'épandage d'engrais azoté, minéral ou organique, génère de fortes émissions de polluants atmosphériques. La composition de ces engrais et les conditions d'application sont des leviers possibles, mais il reste encore des incertitudes.
- **Gestion des effluents d'élevage** - La méthanisation est une pratique encouragée.
- **Épandages** - Il est recommandé d'utiliser des outils adaptés et d'enfouir au plus vite les produits.
- **Couverture des sols en hiver** - la présence d'une végétation permettrait de réduire les émissions, notamment celles des particules primaires liées à l'érosion éolienne. Cette recommandation est en accord avec la directive "nitrates" dont l'objectif premier est d'éviter le lessivage de ces derniers dans les eaux souterraines.

De plus l'idée qui émerge de ces synthèses est la nécessité d'avoir une approche environnementale globale allant de l'échelle de la parcelle jusqu'aux paysages (via les exploitations). En plus de la pollution atmosphérique, un objectif, lié aux pratiques agricoles, est aussi de restaurer la qualité des sols et des eaux.

Par ailleurs, une partie des leviers ci-dessus sont également encouragés par l'initiative 4 pour 1000 prônée par le sommet de la COP21 en 2016. Cette initiative a pour but d'augmenter de 0.4% par an la quantité de carbone des sols. Cette augmentation du stock de carbone des sols permettrait de compenser les émissions annuelles de CO₂ liées à l'activité humaine. Plusieurs actions sont recommandées pour atteindre cet objectif, telle que la diminution du labour, limiter les surfaces de sols nus, le développement des haies, l'augmentation de la durée des pâturages et la restauration des terres dégradées. Durant la COP21, Stéphane Le Foll, alors ministre de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la Forêt a considéré cette initiative comme capable de "... concilier les objectifs de sécurité alimentaire et de lutter contre le changement climatique...".

1.4.3 Les COVs et les changements d'usages des terres en agriculture

Peu d'études se sont directement intéressées à l'impact des pratiques agricoles sur les spectres d'émissions des COVs. Néanmoins, toutes les pratiques agricoles qui modifient les processus de biodégradation des MOS (qualité, quantité et disponibilité), les propriétés édaphiques ou les communautés microbiennes du sol (abondance, activité, diversité) sont fortement susceptibles de modifier la production et l'émission de COVs. Ainsi on sait qu'après trois ans de culture, les propriétés physiques du sol sont modifiées au point d'avoir un impact sur le transport des gaz (Uteau et al., 2013). De plus les changements dans les propriétés physiques et chimiques du sol entraînent des changements dans les communautés microbiennes et donc dans tous les processus du sol (Schimel, 1995). On peut donc s'attendre à ce que la gestion des agrosystèmes modifie, en influençant directement ou pas les communautés microbiennes, les émissions de COVs par les sols. Les

pratiques culturales les plus étudiées, dans le cadre de l'initiative du 4 pour 1000, sont le travail du sol (non travail du sol VS labour), l'effet du couvert végétal (type de couvert, fréquences) et la fertilisation (type, fréquence d'application).

L'intensité du **travail du sol** (labour ou non labour) réduit, par destruction des hyphes mycéliens, l'abondance des champignons du sol (Beare, 1997; Frey et al., 1999). Le travail du sol diminue la diversité et l'équitabilité des communautés bactériennes (Lupwayi et al., 1998). Par exemple, on sait que l'abondance des *Bacteroidetes* augmentent avec l'intensité du labour (Brennan and Acosta-Martinez, 2017). L'arrêt du labour entraîne une augmentation de la stabilité structurale du sol et de l'infiltration en eau (Alvarez and Steinbach, 2009). De plus dans les milieux non labourés, les champignons dominent l'activité de dégradation des MOS (Six et al., 2006). Or on sait que les champignons n'émettent pas les mêmes spectres de COVs que les bactéries (Stahl and Parkin, 1996; Lemfack et al., 2014). On peut avoir par exemple, jusqu'à 13.5 fois plus d'activité fongique que bactérienne dans une prairie (Bailey et al., 2002). Ce résultat est en partie lié à la grande capacité de prospection du milieu par les champignons (de 19 à 292 m d'hyphe par g de sol).

En plus d'être influencées par le labour, la diversité et la composition des communautés microbiennes sont en partie régulées par les **cycles de rotation de culture** (Lupwayi et al., 1998) et la présence de couvert végétal d'interculture (Brennan and Acosta-Martinez, 2017). Par exemple, la fréquence (1 fois tous les quatre ans ou tous les ans) et le type (légumineuse, moutarde ou seigle) du couvert d'interculture modifie l'abondance relative des genres bactériens *Pseudomonas* et *Agromyces*. L'effet du couvert végétal est en partie dû à la restitution des éléments nutritifs que ce dernier a capté lors de sa croissance. Cette restitution a lieu après l'incorporation du couvert au sol. Le réseau trophique des sols agricoles, qui est un ensemble d'interactions entre les différentes communautés du sol (bactéries, champignons, archées, nématodes, ...), dépend, en effet, des entrées d'énergies telles que les résidus de plantes riches en nutriments (Thies and Grossman, 2006; Ferris and Tuomisto, 2015).

Enfin, les communautés microbiennes du sol sont aussi très fortement impactées par les **pratiques de fertilisation** (Jangid et al., 2008). Cet impact est notamment différent en fonction de l'agrosystème. Par exemple, la diminution de l'abondance bactérienne suite à une fertilisation minérale est plus importante dans un sol de culture que dans un sol de prairie (Jangid et al., 2008). Par ailleurs la fertilisation azotée du sol, qu'elle soit minérale ou organique, entraîne une diminution du ratio champignons sur bactéries (Marschner, 2003; de Vries et al., 2006). Cela peut s'expliquer par le fait que les bactéries, avec les archées, régulent le cycle de l'azote dans les sols. Par exemple, l'apport de fumier fertilisé entraîne une augmentation plus importante des bactéries oxydatrices d'ammonium (Ammonia Oxidizing Bacteria - AOB) (Enwall et al., 2007) par rapport aux autres groupes de microorganismes. La dominance des bactéries et des archées dans le cycle de l'azote dépend de la richesse en azote du milieu (Jia and Conrad, 2009; Di et al., 2009, 2010).

Ainsi dans un milieu pauvre en azote, les archées vont dominer ; inversement ce sont les bactéries qui régulent le cycle de l'azote dans les sols agricoles fertilisés en azote. En ce basant sur ces faits, on peut donc supposer que la fertilisation azotée va impacter le spectre de COVs car les bactéries produisent des COVs durant la dégradation de paille apportée dans un sol agricole (Zhao et al., 2016) et que la fertilisation minérale diminue le flux de COVs au cours de la dégradation de certaines litières végétales (Gray and Fierer, 2012). La fertilisation organique, telle que l'apport de compost, modifie la teneur en carbone organique total (Marschner, 2003; Brennan and Acosta-Martinez, 2017) mais pas en carbone organique dissous (Marschner, 2003). Dans d'autres cas, l'apport de boue de station d'épuration diminue le pH, ce qui entraîne d'une part une diminution de l'efficacité des communautés hétérotrophes à convertir la ressource carbonée en biomasse (Enwall et al., 2007) et d'autre part en prairie, une diminution de pH se traduit par une diminution du ratio champignons sur bactéries (de Vries et al., 2006). Concernant **la méthanisation**, qui rappelons-le est recommandée dans le cadre de la transition écologique, il est possible de supposer que la digestion des matières organiques lors du processus va induire des changements des propriétés physico-chimique du substrat initial. Ce changement suggère un impact différent, sur le spectre de COVs, si l'on apporte le substrat originel ou méthanisé (digéré). Néanmoins, les connaissances sur l'impact de la méthanisation et de l'effet de l'apport des digestats sur les sols (valorisation des sous-produits de la méthanisation) sont encore fragmentaires et demandent à être établis pour pouvoir proposer des recommandations.

1.5 Contexte et objectifs scientifiques de la thèse

De l'état de l'art qui précède, il ressort que les émissions de COVs par les sols des surfaces continentales sont au centre de plusieurs défis scientifiques et sociétaux actuels qui sont en prise directe avec les changements globaux en cours (climatique et usages des terres) et la transition écologique amorcée en agriculture. Les COVs en tant que gaz trace à effet de serre contribuent au changement climatique, modifient la qualité de l'air ce qui impacte le climat, la santé humaine et celle des écosystèmes. Les COVs sont aussi des composés-clés médiateurs de nombreuses interactions biotiques et régulent de nombreux processus écologiques à la base du fonctionnement des sols et des écosystèmes. Il y a donc de très forts enjeux qui imposent une prise en compte du cycle des COVs émis dans les écosystèmes pour en limiter les effets néfastes. Cette considération passera par un inventaire des COVs étendu des COVs émis par les sols, qui permettra par la suite de faire évoluer la législation. Ces actions passeront forcément par l'identification et la détermination de la hiérarchie des mécanismes de régulation des émissions dans diverses situations de gestion des écosystèmes et de dynamiques paysagères. Récemment, dans les agrosystèmes, la prédominance des flux de COVs émis par les plantes par rapport à ceux

émis par les sols a été remise en cause (Bachy et al., 2016) suggérant que le contrôle des flux de COVs par les écosystèmes passerait in fine par les pratiques de gestion des sols. Dans un contexte de transition écologique, qui favorise les changements de pratiques agricoles, le secteur de l'agriculture apparaît comme un levier important dans la gestion des émissions de COVs émis par les sols et de leurs impacts. Cette approche est déjà validée pour les émissions de CO₂, CH₄ et le N₂O, où l'agriculture est perçue comme un levier majeur pour réguler les émissions biologiques de ces gaz et donc leurs impacts sur les changements globaux (Paustian et al., 2000; Six et al., 2004; Lal, 2004a; Howden et al., 2007). Par exemple, dans le cadre de l'initiative du 4 pour 1000, les sols agricoles sont identifiés comme des puits possibles de carbone (Post and Kwon, 2000; Bailey et al., 2002; Lal, 2004a,b).

Il est donc nécessaire d'augmenter les connaissances sur les mécanismes et processus qui conduisent à la production et l'émission de COVs par les sols agricoles. De nombreux programmes de recherche interdisciplinaires portant sur les émissions à l'interface sol-atmosphère sont rattachés directement ou non aux thématiques des émissions de COVs par les sols agricoles ce qui fédère de nombreux acteurs. Par exemple, l'initiative 4 pour 1000, proposée par la France, regroupe tous les acteurs volontaires du public et du privé au travers du Plan d'action Lima-Paris (voir : <http://newsroom.unfccc.int/lpaa/agriculture/>). De plus ces questions liées aux COVs s'inscrivent dans différents programmes nationaux tels que le programme PRIMEQUAL⁵, l'appel à projet CORTEA⁶ soutenu par l'ADEME ou encore le programme interdisciplinaire et interorganismes ("Ecosphère Continentale et Côtière" EC2CO) du CNRS.

On peut ainsi voir que les thématiques liées à la qualité de l'air font preuve d'un intérêt croissant. C'est donc dans ce contexte, que trois objectifs principaux ont été poursuivis dans cette thèse : i) inventorier les spectres et quantifier les flux de COVs émis par les sols dans les paysages agricoles ii) déterminer le rôle des microorganismes dans les émissions et iii) identifier les déterminants abiotiques de régulation des émissions dont en particulier le lien de dépendance entre les matières organiques du sol, la diversité des microorganismes et spectres d'émissions de COVs. Pour ce faire, les recherches entreprises ont cherché à répondre aux questions suivantes :

1. Quel est l'effet des pratiques culturales et de l'occupation des sols sur les spectres d'émission des COVs (signature) ?
2. Quelle est la dynamique temporelle des émissions de COVs par les sols agricoles ?
3. Quels sont les flux de COVs émis par le sol vers l'atmosphère dans les différents paysages agricoles ?

5. Programme de recherche interorganisme pour une meilleure qualité de l'air

6. Connaissances, réduction à la source et traitement des émissions de polluants dans l'air

4. Quel est le lien entre la composante microbienne des sols et les propriétés physico-chimiques du sol dans les mécanismes d'émission ?
5. Quels paramètres pédo-climatiques expliquent les spectres de COVs des sols agricoles ?

La réponse à ces questions est passée par le monitoring des émissions de COVs dans deux sites représentatifs des usages des terres en Bretagne : des sols cultivés en agriculture conventionnelle (SOERE PRO - EFELE) et des prairies de faible ou haut niveau de gestion (Zone atelier Armorique, 35). Ces mesures *in situ* ont également été couplées à des expérimentations en conditions contrôlées de laboratoire. La stratégie analytique utilisée dans cette étude et les développements méthodologiques réalisés sont présentés dans le chapitre 2 avec, dans un premier volet les sites observatoires auxquels j'ai eu accès pour mener à bien le monitoring des émissions de COVs sur le terrain. La stratégie d'échantillonnage qui a été mise au point pour le prélèvement des COVs ainsi que le matériel spécialement conçu sont ensuite détaillés dans un second volet. Enfin, la présentation des analyses réalisées en parallèle des mesures des émissions de COVs, telles que la génomique environnementale et les mesures physico-chimiques des sols occupera un troisième volet. Ce dernier est également consacré à la description de l'exploration et de l'exploitation des grands jeux de données obtenus.

Le chapitre 3 est consacré aux résultats obtenus. Il présente, dans un premier volet, les résultats de la dynamique temporelle des émissions de COVs par les sols dans les agrosystèmes représentatifs de paysages agricoles, au cours de 2 ans et demi de suivi (2015-2017). Un second volet s'adresse à l'impact à court terme de la fertilisation organique des sols par du lisier de porc et son digestat de méthanisation sur les flux de COVs. Ces résultats ont permis de démontrer la spécificité des spectres de COVs émis par les sols et de commencer à hiérarchiser les facteurs abiotiques quant à la régulation des flux de COVs.

Le chapitre 4 regroupe les résultats consacrés à l'analyse des déterminants biotiques et abiotiques impliqués dans les processus d'émission des COVs par les sols. Ce chapitre comprend les résultats d'une expérimentation de transplantation de diversité, réalisée en condition de laboratoire. Cette expérimentation a testé la prédominance des communautés microbiennes vis-à-vis des facteurs abiotiques sur le processus de production et d'émission des COVs par différents sols. Ce chapitre inclut également une synthèse d'expérimentations préliminaires réalisées en amont de celles mentionnées ci-dessus et testant plus particulièrement l'effet de différentes sources de MOS sur les spectres de COVs émis par les sols.

Enfin le dernier chapitre 5 synthétise l'ensemble des résultats et les avancées majeures liées à cette thèse. Par la suite une mise en perspective de ces résultats est présentée au vu de la littérature scientifique disponible à ce jour.

Chapitre 2

Stratégie d'échantillonnage et méthodes analytiques et omiques

2.1 Les observatoires sur le long-terme en écologie

Le projet autour duquel s'articule ce travail de thèse est transdisciplinaire et s'est appuyé sur deux observatoires à long terme représentatifs des pratiques agricoles observées en Bretagne (figure 2.1) : un site constitué de parcelles cultivées, EFELE, et un site constitué de prairies, la Zone Atelier Armorique (ZAAr). Ces observatoires permettent d'avoir un suivi sur plusieurs années, des connaissances sur l'historique des parcelles, la mise à disposition de méta-données. Ce qui permet une confrontation ou une mise en relation des résultats obtenus par l'ensemble des équipes de recherche travaillant sur ces sites.

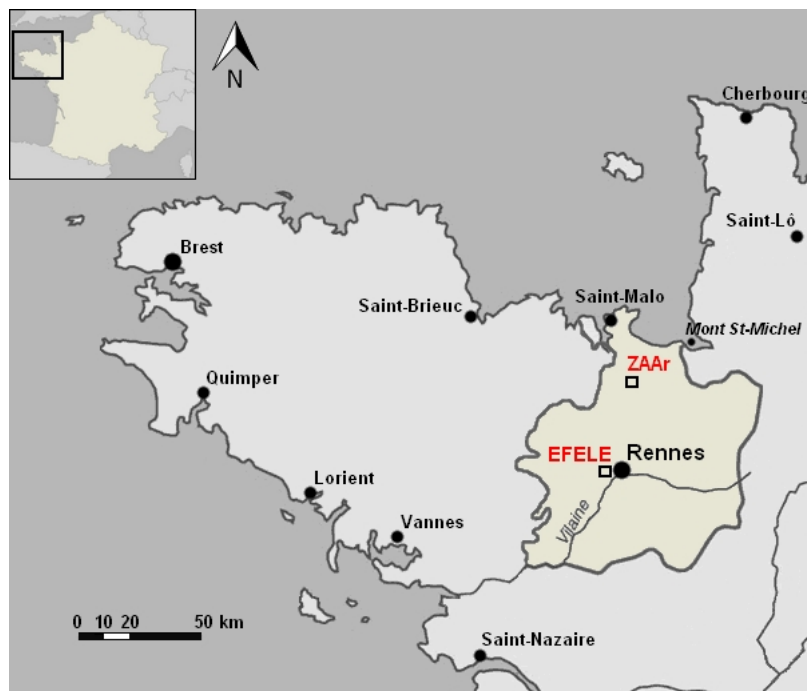


FIGURE 2.1 – Cartographie à l'échelle de la France et de la Bretagne des deux sites autour desquels le travail de thèse s'articule : le site EFELE et la Zone Atelier Armorique (ZAAr)

2.1.1 Les sites d'études

Le SOERE-PRO : site EFELE

Les SOERE, qui sont labellisé par AllEnvi¹, sont des réseaux visant à répondre à des questions propres à l'environnement, en intégrant l'étude de ses compartiments et de leurs interfaces. Les études rattachées aux SOERE se placent donc dans une large échelle spatio-temporelle et dans des milieux et habitats très variables. Ces réseaux permettent l'acquisition des données couplant des informations biophysiques, biologiques et socio-économiques dans des contexte d'interactions et de rétroactions, en prenant en compte les facteurs anthropiques. L'ensemble de ces données permet de dégager une compréhension des processus à l'œuvre au sein des écosystèmes.

1. Alliance nationale de recherche pour l'Environnement



FIGURE 2.2 – Photographie aérienne du site EFELE à gauche et représentation graphique des micro-parcelles suivies durant la thèse à droite. Le cadre rouge représente la localisation des micro-parcelles au sein du site. Les ronds noirs correspondent à la position des embases

Le réseau SOERE-PRO, piloté par l'UMR EcoSys, s'intéresse aux impacts environnementaux du recyclage des Produits Résiduels Organiques (PRO) sur les écosystèmes cultivés sur le long terme, au travers de 5 sites expérimentaux de plein champs. Les sites sont conçus à l'échelle de la micro-parcelle et permettent de mesurer l'évolution des différents compartiments d'un agrosystème recevant des PROs. Le site EFELE, géré par l'UMR SAS², est dédié à l'évaluation sur le long terme des effets agronomiques et environnementaux des effluents d'élevage. Il a été initié en 2011.

Le site EFELE est constitué de micro-parcelles de 8 x 12 mètres correspondant à 9 modalités différentes randomisées dans l'espace et répliquées 4 fois (Figure 2.2). Au cours de cette thèse quatre modalités ont été suivies en trois réplicats :

- parcelles ne recevant ni apport organique ni fertilisation (contrôle ou C),
- parcelles fertilisées avec de l'azote minéral (N),
- parcelles fertilisées avec du lisier de porc (LP ou PS en anglais),
- parcelles fertilisées avec du digestat de lisier de porc (DLP ou MPS en anglais).

La méthanisation étant une pratique agricole encouragée dans le cadre de la transition écologique, les parcelles où le sol reçoit du lisier de porc et du digestat de lisier de porc ont été suivies. Ce suivi permettra de mesurer l'effet de la méthanisation sur l'impact d'un même produit qui est le lisier de porc. Pour finir, la parcelle recevant de l'azote minéral permettra de comparer l'impact de l'application de PRO par rapport à ce qui est réalisé

en agriculture conventionnelle.

La Zone Atelier Armoriques (ZAAr)



FIGURE 2.3 – Photo aérienne des prairies humides (H) et drainées (P) étudiées au cours de la thèse. 1, 2 et 3 correspondent aux numéros de réplicats.

La Zone Atelier Armorique (ZAAr) s'étend de Rennes jusqu'au mont St Michel et fait partie, à l'échelle nationale, du réseau des zones ateliers et, à l'échelle internationale, du réseau ILTER (international long term ecological research). Les études au sein des zones ateliers sont centrées sur une unité fonctionnelle, comme par exemple les haies ou encore un fleuve et son bassin versant, et encouragent une approche scientifique d'observations et d'expérimentations pluridisciplinaires sur le long terme. Dans le cas de cette étude, l'unité fonctionnelle est la parcelle agricole.

Il existe trois grands objectifs propres à la ZAAr. Le objectif est de comprendre les relations entre la structure du paysage, les usages des sols et les processus écologiques et biogéochimiques. Le deuxième objectif est de comprendre comment les politiques publiques, notamment liées à l'agriculture et l'agro-écologie, structurent et font évoluer les paysages et les usages des sols. Le troisième objectif est d'évaluer l'efficacité des politiques publiques en termes de protection des ressources et de la biodiversité, et des services écosystémiques rendus. Cette thèse s'intègre, ainsi, parfaitement dans le

premier objectif de la ZAAr, en étudiant les liens entre les usages des sols (prairies) et les émissions de COVs (processus écologique et biogéochimique).

La zone étudiée se situe entre Bazouges la Pérouse (35), Trans-la Forêt (35) et Cuguen (35), trois communes de l’Ile et Vilaine (35), en Bretagne (35). Dans le cadre de la gestion des émissions de GES par les pratiques d’élevage, les recommandations actuelles préconisent l’augmentation des durées de pâturage, deux modalités de prairie représentatives des pratiques de management en Bretagne ont été suivies. Les modalités sont ainsi des prairies permanentes drainées fertilisées (P) et des prairies permanentes humides (H) utilisées pour le pâturage. Pour chacun des trois réplicats, les parcelles correspondant aux deux modalités de prairies sont localisées à moins d’1 km l’une de l’autre. L’ensemble des prairies se trouvant dans un cercle de 5 km de diamètre. (Figure 2.3).

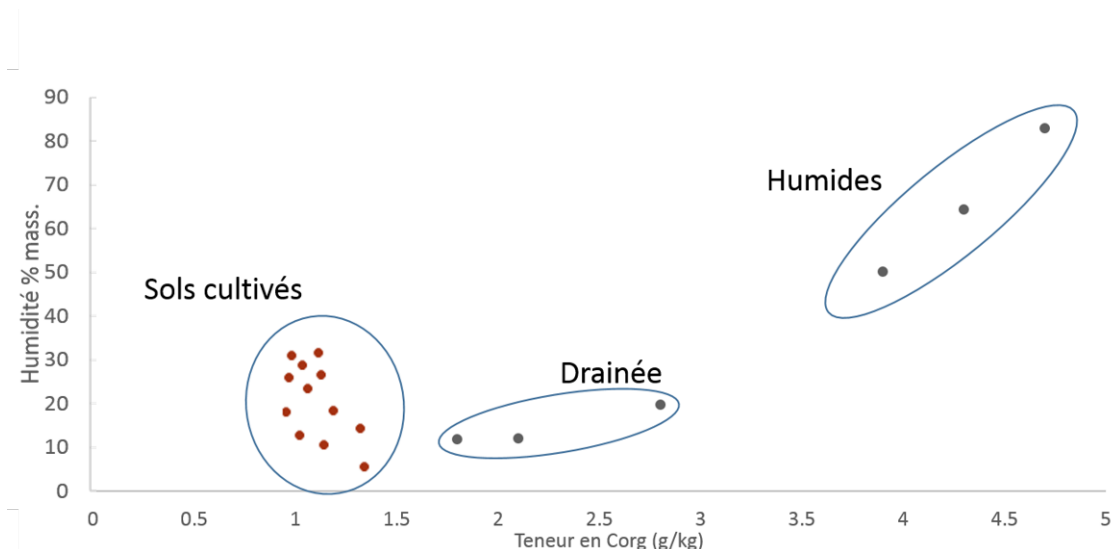


FIGURE 2.4 – Caractérisation des sols des parcelles cultivées et prairiales selon leur humidité (% massique) et leur teneur en Carbone organique (g/kg)

A partir du gradient représenté par la figure 2.4, nous observons que les sols des deux modalités de prairie sont séparés selon leurs teneurs en eau et en Corg. Ce gradient permet aussi de discriminer les sols cultivés des prairies (figure 2.4). Néanmoins au sein du site EFELE, il ne permet pas de différencier les micro-parcelles. A partir de cette différenciation, nous pouvons émettre l’hypothèse que les communautés microbiennes et la composition en matières organiques des sols des parcelles étudiées seront différentes.

2.1.2 Caractérisations pédo-climatiques

Pour rendre compte des liens potentiels entre l’environnement abiotique (pédologique et le micro-climat) et les émissions de COVs par les sols, des mesures des caractéristiques pédo-climatiques ont été réalisées en parallèle de chaque échantillonnage de gaz.

Caractérisation pédologique

Les stocks de matière organique dans les sols évoluant sur des échelles annuelles (Balesdent et al., 2000), nous avons choisi de nous focaliser sur les matières organiques dissoutes dont les teneurs évoluent sur des périodes de temps plus courtes et sont plus représentatives des nutriments accessible aux microorganismes. Embacher et al. (2007) et Chantigny (2003) montrent effectivement une variation journalière à mensuelle de la teneur en matière organique dissoute dans les sols. Des analyses des matières organiques extractibles à l'eau (WEOM en anglais) ont donc été réalisées, ces mesures correspondant à la partie de la matière organique dissoute la plus accessible aux microorganismes du sol. La WEOM a été obtenue selon le protocole décrit par Zsolnay and Görlitz (1994), correspondant à une extraction de 100 g de sol (en équivalent sec) dans 200 ml de tampon contenant 4mM de CaSO_4 sur une roue d'agitation pendant 10 minutes, suivi d'une étape de filtration sous vide. Le carbone et l'azote de la WEOM (soit respectivement WEOC et WEON) ont donc été quantifiés respectivement par un TOC (total dissolved organic carbon)(Bioritech OI-Analytical 1010) et par mesure automatisée décrit dans Armstrong et al. (1967).

Le pH du sol pouvant varier à l'échelle de la semaine (Luo et al., 2000), le pH_{eau} a également été mesuré en parallèle des échantillonnages de gaz sur le terrain et au laboratoire selon le protocole décrit dans la norme ISO 10390.

Caractérisation du micro-climat

Simultanément aux échantillonnages de COVs sur le terrain, différents paramètres micro-climatiques (pression atmosphérique, les températures et humidité de l'air et du sol) ont été mesurés. Ces paramètres sont connus pour réguler les émissions de gaz entre le sol et l'atmosphère (Scanlon et al., 2002; Rolston and Moldrup, 2012).

2.1.3 L'échantillonnage des COVs sur le terrain

La conception et le développement du dispositif d'échantillonnage des COVs émis par les sols, constitué d'une embase fixe dans le sol et d'une chambre amovible en inox, ainsi que la mise au point de la stratégie d'échantillonnage de ces gaz ont été réalisés sur les 6 premiers mois de la thèse.

Les sites d'échantillonnage de gaz sont géolocalisés, ces localisations correspondent au positionnement des embases dans le sol (figure 2.5) placées en janvier 2015. Afin d'assurer le suivi à long terme des émissions de COVs, elles sont toujours en places. Au sein des micro-parcelles de EFELE, du fait du labour, les embases sont enlevées pendant le travail du sol puis remises après le passage des engins agricoles. De plus, les embases sont placées à deux mètres des bordures pour limiter l'effet de bord. Dans le cas de la ZAAR, les

embases sont placées préférentiellement au centre des prairies, toujours pour éviter les effets de bord, et de plus nous avons évité les zones piétinées ou fortement tassées, tels que les passages de tracteurs et ou les zones proches des abreuvoirs pour les parcelles pâturées. Quel que soit le cas, les embases sont mises dans le sol au moins 1 semaine avant chaque échantillonnage pour limiter les effets d'une perturbation du sol sur les émissions de COVs. L'utilisation d'une embase fixe dans le sol est une technique couramment utilisée dans le suivi des gaz émis par les sols (Asensio et al., 2007b; Aaltonen et al., 2013)



FIGURE 2.5 – Une embase venant d'être mise dans le sol.

Lors de l'échantillonnage, la chambre de prélèvement est placée hermétiquement sur l'embase, puis un renouvellement total de l'atmosphère intérieure de la chambre (12.5 L) est effectué avec un flux d'air ultra pur (ALPHAGAZ 2 de chez Air Liquide, dans notre cas) à un débit de 5.5 L/min pendant 10 min.

Le prélèvement dynamique des gaz émis par le sol est la technique utilisée dans le cadre de ce projet. Elle consiste à injecter dans la chambre de prélèvement un gaz de référence, de l'air ultra pur avec un débit volumique constant Q (0.210 L/min), et de le prélever avec le même débit volumique en sortie de la chambre de sorte que l'air ultra pur soit chargé des composés gazeux émis par le sol. Cette technique diminue le temps de résidence des COVs dans la chambre de prélèvement et compense donc la réactivité avec l'inox qui la constitue. En outre, elle surestime le flux en imposant un gradient de concentration entre l'air du sol et l'air de la chambre. À ce stade, soit le gaz en sortie de chambre est analysé in situ, soit il est prélevé pour être analysé en laboratoire. Comme ce protocole expérimental doit être identique sur les deux sites, EFELE et ZAAr, nous avons choisi de conditionner le gaz échantillonné dans des Canisters silcocan (Restek) spécifiquement

dédiés aux prélèvements des COVs. Différents tests ont permis de valider l'utilisation des canisters. L'analyse des gaz s'effectue le jour suivant leur prélèvement, sauf exception, sachant que la durée du conditionnement peut aller jusqu'à trois jours sans modification des concentrations.

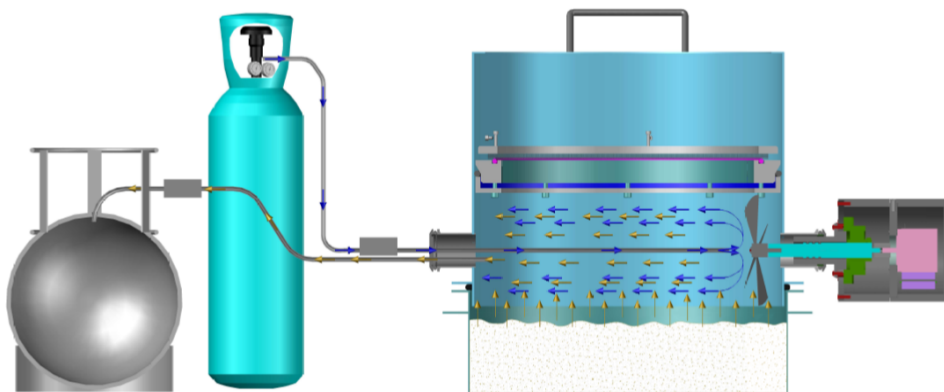


FIGURE 2.6 – Schéma de principe en coupe transversale de la chambre d'échantillonnage. L'air ultra-pur est amené devant le ventilateur par un tube 1/4". Les flèches bleues représentent le trajet de l'air ultra-pur injecté et les flèches vertes représentent les gaz émis par le sol. Ainsi, en sortie, le gaz récupéré est constitué de l'air pur mélangé aux gaz émis par le sol.

2.1.4 Expérimentations en conditions contrôlées : microcosmes et procédure d'échantillonnage des COVs

Des microcosmes ont été développés afin de réaliser des mesures de COVs émis par des petits échantillons de sol en conditions contrôlées au laboratoire. Ces microcosmes consistent en des bocaux en verre d'un volume de 0.125 L, recouverts d'un filtre en fibre de quartz d'une maille de $0.2\ \mu\text{m}$ afin de limiter la contamination des échantillons par des microorganismes atmosphériques, et fermés par un couvercle en verre percé de deux orifices permettant la circulation de l'air.

Avant chaque mesure de COVs, le couvercle percé est remplacé, en conditions stériles, par un couvercle en verre sur lequel sont fixés deux raccords rapides (figure 2.7). Le premier raccord permet d'induire un flux entrant d'air ultra pur et le second permet de connecter les appareils de mesure des COVs (PTR-MS dans notre cas) en direct. Avant chaque mesure, l'atmosphère du microcosme est entièrement renouvelée par de l'air ultra-pur selon un débit de 0,150 L/min pendant 5 min. Les COVs émis par les échantillons de sol sont ensuite accumulés dans le microcosme pendant 10 min après lesquelles ils sont prélevés et mesurés avec le PTR-MS directement raccordé au microcosme en sortie. Un flux d'entrée d'air pur (0.05 L/min) est induit lors de l'échantillonnage afin de compenser le prélèvement par le PTR-MS et éviter une dépression à l'intérieur du dispositif, la mesure durant 1'15 min.



FIGURE 2.7 – Microcosmes entre les mesures (à gauche) et avant les mesures (à droite)

2.1.5 Analyses des COVs et du CO₂

Méthode d'analyse du PTR-MS

La spectrométrie de masse à transfert de proton (PTR-MS) est basée sur une technique dite de "ionisation douce" consistant à transférer un proton de l'ion H_3O^+ vers une molécule (M) ayant une affinité protonique supérieure à celle de la molécule d'eau. Ainsi la molécule M s'ionise par l'ajout d'un proton ce qui augmente la masse de M d'une unité de masse atomique (amu). La molécule protonée (MH^+) est ensuite sélectionnée dans un filtre de masse quadripolaire avec une résolution inférieure à 1 amu et détectée avec un multiplicateur d'électrons (channeltron). À partir du signal de l'ion H_3O^+ , $[H_3O^+]_0$, et de celui de la masse protonée, $[MH^+]$, la concentration de la molécule, $[M]$, peut facilement être calculée selon l'équation (Lindinger et al., 1998) :

$$[MH^+] = [H_3O^+]_0(1 - e^{-k[M]t}) \approx [H_3O^+]_0[M]kt$$

où t est le temps moyen que les ions passent dans la zone de réaction du spectromètre et k est la constante de vitesse de la réaction de transfert de proton. Ici, la concentration a été calculée en supposant que la réaction de transfert de proton se réalise au coefficient de Langevin qui est de l'ordre de $k \approx 2.10^{-9} \text{ cm}^3 \text{ molécules}^{-1} \text{ s}^{-1}$ pour la plupart des COVs que nous sommes susceptibles de détecter dans cette étude. Dans le but de minimiser la fragmentation de la molécule au cours de la réaction de transfert de proton et la formation d'agrégats de type $(H_2O)_n-H_3O^+$, le PTR-MS a été utilisé sous un champ électrique réduit $E/N = 135 \text{ Townsend}$, où E est le champ électrique soumis aux ions et N la concentration des particules neutres, présent dans la zone de réaction.

Notons également que l'abondance relative (en pourcentage) de chaque masse, pour un spectre donné, se calcule à partir du rapport de la concentration de la masse sur la somme des concentrations associées aux masses détectées.

Chaque analyse d'échantillon gazeux effectuée au PTR-MS consiste donc à faire l'acqui-

sition d'un spectre de masses entre 21 et 151 unités de masse atomique. En général, 9 spectres sont enregistrés par échantillon gazeux et ils sont ensuite moyennés afin d'obtenir un spectre dit « moyen » (Figure 2.8).

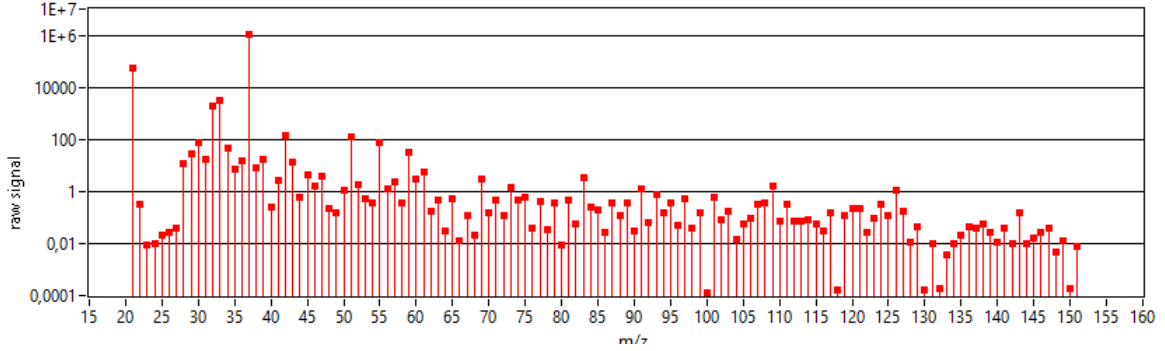


FIGURE 2.8 – Exemple de spectre moyen obtenu après l'analyse au PTR-MS.

Traitement des données - obtention des concentrations

Afin d'extraire les concentrations de ces spectres de masse, il convient dans un premier temps de soustraire le bruit de fond de l'appareil que l'on obtient en faisant un spectre de l'air ultra pur. Ce dernier étant dépourvu de COVs, le spectre représente essentiellement le bruit électronique de l'appareil qui n'est pas identique pour toutes les masses. Cette étape a également pour but de soustraire la contribution des concentrations d'éventuels COVs qui pourraient malgré tout être présents dans cet air. Notre PTR-MS ayant une limite de détection de 300 pptV dans des réglages optimisés, seules les masses ayant une concentration supérieure à 500 pptV, après soustraction du bruit de l'air ultra-pur, ont été prises en compte dans nos analyses.

Enfin, certaines masses ne correspondent pas à des COVs et il convient donc de ne pas en tenir compte. C'est le cas des masses 21 (isotope de l'ion précurseur, H_3O^+), 28 (N_2^+), 30 (NO^+), 32 (O_2^+), 37 (dimère de l'ion précurseur) et 55 (trimère de l'ion précurseur). Dans le cadre de ce travail, seul l'ion hydronium (H_3O^+) a été utilisé comme ion précurseur.

Calculs des flux

Dans le cadre de ce travail de thèse le flux moléculaire F_{cov} (en $\mu g \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$) s'obtient selon l'équation suivante :

$$F_{cov} = \frac{Q}{A} * C_{cov} * \frac{M_{voc}}{V_m}$$

Où A (m^2) est la surface du sol enfermé dans la chambre et délimitée par l'embase, M_{voc} est la masse molaire du composé gazeux (kg/mol), V_m le volume molaire (m^3/mol), C_{cov} la concentration mesurée directement au PTR-MS (ppbV) et Q le débit en L/sec.

Analyses du CO₂

Les analyses de CO₂ ont été réalisées via une μ -GC (micro Gas Chromatography ou micro-chromatographie en phase gazeuse). Le principe de fonctionnement de cet appareil est basé sur la séparation moléculaire en phase gazeuse. Le gaz prélevé pour les mesures est alors injecté dans un gaz porteur inerte (hélium dans notre cas) qui déplace les molécules de l'injecteur vers le détecteur. Un poraplot U est utilisé pour séparer efficacement le CO₂ des autres molécules contenues dans nos échantillons. Un poraplot U permet de trier en fonction de la réactivité des molécules. Une fois la séparation effectuée, les molécules vont être détectées par un catharomètre. La surface du signal observé correspondra ainsi à la quantité de gaz détecté. Bien que la réponse entre la surface observée et la concentration injectée dans l'appareil soit linéaire, il est nécessaire de calibrer régulièrement l'appareil pour prendre en compte la dérive du détecteur. Dans ce travail, la courbe de calibration est contrôlée avant chaque cycle de mesure. Au vu des concentrations mesurées, nous avons choisi une calibration allant de 250 ppmV à 2000 ppmV de CO₂.

2.1.6 Étude des communautés microbiennes du sol

Génomique environnementale

La génomique environnementale utilise l'information génétique (ADN ou ARN) pour appréhender la diversité, le fonctionnement et l'évolution des organismes à différentes échelles spatiales (allant du micro-agrégat jusqu'aux écosystèmes) et temporelles qui vont de l'ordre de la seconde (production d'une molécule) jusqu'aux processus d'évolution.

Il est possible d'analyser l'ensemble des ADN et/ou ARN d'un échantillon donné, on parle alors de métagénomique / transcriptomique, ou alors de cibler des organismes précis en utilisant des biomarqueurs spécifiques. Cette deuxième approche qualifiée de métabarcoding a été utilisée durant ce travail de thèse afin d'analyser les communautés microbiennes (bactéries, champignons et archées) du sol.

Metabarcoding

Les approches par metabarcoding, utilisent des marqueurs spécifiques, appelés barcodes, pour analyser les assemblages biologiques dans les écosystèmes. Ces barcodes (table 2.1) sont amplifiés via PCR (Polymerase Chain Reaction) et doivent être suffisamment stables génétiquement pour être identiques chez deux individus d'une même lignée phylogénétique et présenter un taux d'évolution suffisamment élevé pour être différents entre deux individus d'une lignée phylogénétique différente. Dans ce projet, j'ai étudié les bactéries, les champignons et les archées du sol et je me suis appuyé sur la bibliographie afin d'identifier les meilleurs barcodes pour qu'ils soient i) appropriés aux contraintes techniques liées au séquençage Illumina (longueur de l'amplicon d'environ 450 pb) et à mes questions

de recherche et ii) spécifiques à chacune de ces communautés. Par exemple, dans le cas de l'amplification des champignons, il est possible de cibler le gène codant pour l'ARNr 18S ou la région "Internal Transcribed Spacer" (ITS) située entre les gènes codant l'ARN ribosomique. Nous avons choisi d'amplifier la région ITS car elle permet une meilleure identification des champignons à des niveaux taxonomiques bas (Horton & Bruns, 2001 ; Kõljalg et al., 2005; Schoch et al., 2012) et donc d'approcher au mieux la diversité fongique total d'un échantillon. La région ITS entière étant plus grande que 450 pb, nous avons donc choisi de cibler spécifiquement la région ITS1 suite à des tests d'amplification et parce que cette région est plus variable que l'ITS2 (R. Henrik Nilsson, 2008).

Règne	Barcode	Primers	Ref
Bactérie	341F	5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3'	Herlemann et al. (2011)
	805R	5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3'	Klindworth et al. (2013)
Champignons	ITS1f	5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3'	Gardes et al. (1993)
	ITS2r	5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3'	White et al. (1990)
Archée	Arch344f	5'-ACGGGGYGCGAGCGCGA-3'	Raskin et al. (1994)
	Arch806r	5'-GGACTACVSGGTATCTAAT-3'	Takai et al. (2000)

TABLE 2.1 – Barcodes ciblés et séquences des amorces utilisées pour chaque groupe microbien

Approche ARN VS approche ADN

Dans le cadre de ce travail, nous avons étudié la diversité microbienne du sol par des analyses d'ADN et d'ARN. Les analyses basées sur l'ADN permettent d'accéder à l'intégralité de la diversité génétique présente dans un échantillon, qu'elle soit active ou non, vivante ou non. Cette approche permet d'avoir donc une vision globale de la diversité présente, il s'agit d'une image de la potentialité des communautés, c'est-à-dire de tout ce qui pourrait être actif à un moment donné. L'ADN pouvant être conservé longtemps dans les sols, il est possible de détecter des organismes qui ne contribuent plus au fonctionnement écologique de l'échantillon soit parce qu'ils sont morts soit parce qu'ils n'y sont plus présents. D'un point de vue technique, contrairement à l'ARN, l'ADN est plus facile à extraire du sol, à conserver et à amplifier car il est présent en plus grande quantité d'une part et plus stable d'autre part.

Les analyses basées sur l'ARN permettent d'accéder à l'intégralité des microorganismes qui sont actifs ou vivants au moment du prélèvement. Cette approche est donc préférable pour relier la diversité microbienne et les processus écologiques qui se déroulent sur des temps courts.

A partir de ces éléments, dans le cadre des suivis sur le terrain, la diversité microbienne a été appréhendée à partir d'analyses basées sur l'ARN pour pouvoir comparer les microorganismes actifs aux moments du prélèvement. Par contre, en conditions de laboratoire et sur des échantillons stériles inoculés l'approche ADN a été appliquée. En effet, dans ce cas les communautés sont directement liées à l'inoculation, ainsi les différences observées entre différents prélèvements sont censées être liées à une activité des communautés.

2.1.7 Extraction des acides nucléiques et séquençage

L'ADN ou l'ARN total de chaque sol a été extrait avec le kit d'extraction PowerSoil® RNA (MO BIO Laboratories, Carlsbad, CA, USA) selon les instructions du constructeur, impliquant la lyse cellulaire broyage à billes dans un mélange phenol :chloroform :isoamyl alcohol (25 :24 :1). Dans le cas de l'extraction d'ARN, une étape supplémentaire permettant d'enlever l'ADN génomique est réalisée, en utilisant le produit RQ1 RNase-free DNase (Promega). Ensuite, l'ADN et l'ARN sont respectivement amplifié par polymérase chain reaction (PCR) ou par reverse transcription polymérase chain reaction (RT-PCR). ces amplifications sont réalisées en deux réplicats. A la suite de l'amplification, les réplicats sont regroupés et envoyés au Centre d'innovation Génome Québec pour le multiplexage et le séquençage Illumina paired-end (2×250 bp) MiSeq.

2.1.8 Analyses des séquences

Les séquences de bactéries et d'archées obtenues par séquençage Illumina MiSeq 2x250 pb ont été traitées avec le pipeline FROGS (Find Rapidly OTUs with Galaxy Solution) (Auer et al., 2016) implémenté sur Galaxy. La méthode d'aggrégation des séquences (clustering) swarm (Mahé et al., 2014) a été utilisée en se basant sur une différence de 3 nucléotides entre chaque séquence. Les chimères ont été supprimées par VSEARCH v1.3.0 et seuls les OTUs représentés par au moins 6 séquences (Bokulich et al., 2012) et présents dans au moins deux échantillons indépendants ont été conservés. L'affiliation des OTUs a été réalisée avec BLAST+ (Camacho et al., 2009) en utilisant la base de donnée silva 16S (version 128) et avec un pourcentage de couverture et d'identité de 97%.

A l'issue du séquençage et du traitement des séquences obtenues, le nombre total de séquences obtenues par échantillon est différent. Ainsi dans le but de comparer la diversité microbienne de chaque échantillon, il est nécessaire qu'ils aient la même profondeur de séquençage. Le nombre de séquences pour chaque échantillon est donc normalisé et réduit au plus petit nombre de séquences obtenu. Dans notre cas, cela a été effectué avec la fonction "rarefy" du package vegan (Oksanen et al., 2015) de R qui effectue un nombre

de tirages aléatoires correspondant à la taille désirée.

2.1.9 Les descripteurs (diversité et richesse)

A partir des matrices de distribution des COVs et des microorganismes dans les différents échantillons obtenus, la richesse ainsi que des indices de diversité et d'équitabilité ont été calculés. Ces descripteurs sont couramment utilisés en écologie.

La richesse (S) désigne le nombre d'espèces présentes dans un milieu donné. Elle décrit donc le nombre de masses détectées par le PTR-MS ainsi que le nombre d'OTUs microbiens dans chaque échantillon. Cet indice, permet de distinguer les variations spatiales et temporelles des espèces (vivantes ou chimiques) décrites. La richesse présente néanmoins l'inconvénient d'être dépendante de la taille des échantillons, ce qui peut limiter la comparaison entre différentes études.

Traditionnellement, trois niveaux de diversité sont reconnus et décrit par différents indices. Dans le cas de notre étude, nous avons utilisé la diversité locale (α) et la diversité de différenciation (β). De nombreuses synthèses bibliographiques ont été réalisées sur le sujet, pour plus de détails il convient de se référer à Koleff et al. (2003); Gaston (2000) et Blackburn and Gaston (2003)).

Pour la diversité α , nous avons calculé l'indice de Shannon-Wiener (H') selon la formule :

$$H' = \sum_{i=1}^n p_i \log p_i$$

Où :

- p_i = abondance relative de l'espèce i : $p_i = n_i/N$
- n_i = nombre d'individus dans l'espèce i
- N= Nombre total de la population

L'indice de Shannon est classé dans les indices de diversité de type I, qui sont sensibles aux variations des espèces les plus rares (Peet, 1974).

A partir de la richesse et de l'indice de Shannon, l'indice d'équitabilité de Pielou a été calculé, il permet de mesurer la proportion de chacune des espèces au sein d'une population. Sa valeur est comprise entre 0 (dominance d'une des espèces) à 1 (équi-répartition des espèces au sein de la population). Cet indice se calcule selon la formule suivante :

$$J' = H'/H'_{max}$$

Où $H'_{max} = \log(S)$ et S = le nombre total d'espèces

Pour la diversité β , nous avons calculé la distance de Bray-curtis qui permet d'évaluer la dissimilarité entre deux échantillons, en termes d'abondance d'espèces. Comme l'indice

d'équitabilité, la distance de Bray-Curtis est comprise entre 0, pour le cas où les échantillons sont totalement identiques, et 1 si les échantillons sont totalement dissemblables. Pour le cas de deux échantillons, j et k, la distance est calculée selon l'équation suivante :

$$BC_{jk} = 1 - \frac{2 \sum \min(N_{ij}, N_{ik})}{\sum (N_{ij} + N_{ik})}$$

Où N_{ij} est l'abondance d'une espèce i dans l'échantillon j et N_{ik} correspond à l'abondance de la même espèce pour l'échantillon k. Le terme $\min(\dots)$ correspond à l'abondance minimum pour l'espèce i entre les deux échantillons. Les sommes sont calculées sur l'ensemble des espèces obtenues dans les échantillons.

La mesure de la robustesse de l'échantillonnage des COVs

A partir des masses mesurées sur l'ensemble des prélèvements de COVs réalisés sur le terrain, des courbes de raréfaction ont été tracées à l'aide du package "vegan" du logiciel R. Il s'agit de tester la robustesse de notre échantillonnage en évaluant le nombre d'échantillonnages qui permet d'obtenir la richesse totale.

2.1.10 Analyse de données et traitement statistique

Pour finir, le traitement des données et leur exploitation a nécessité de nombreuses recherches dans les outils statistiques pour permettre l'analyse de jeux de données importants (1 à 3 Giga Octet) et décrivant des compartiments spatio-temporels très différents (microorganismes, caractérisation pédologique et micro-climat). C'est pourquoi l'ensemble des traitements statistiques réalisés dans cette thèse sont détaillés spécifiquement dans les articles présentés dans cette thèse.

Chapitre 3

Pattern spatio-temporel des émissions de COVs dans les agrosystèmes

3.1 Contexte scientifique

Les COVs influencent la distribution des oxydes d'azote (NO_x), des aérosols organiques secondaires (AOS) et de l'ozone (O₃) (Atkinson and Arey, 2003a) car ils participent à différentes réactions physico-chimiques au sein même de la troposphère. Ces réactions sont liées et si l'une d'elles est modifiée, par une augmentation de l'entrée des COVs par exemple, l'ensemble est impacté. De plus, ces réactions troposphériques peuvent rétroagir sur la biosphère. Par exemple, une augmentation des teneurs en ozone troposphérique diminue le rendement des plantes (Ainsworth et al., 2012) et augmente de 45% le flux de COVs émis par les plantes (Llusià et al., 2002). De ce fait, il est indispensable de mieux gérer et réguler les flux de COVs, principalement dans un contexte où il faut accroître notre capacité à nourrir une population humaine grandissante.

En 2012, selon la base de données de CORINE Land Cover, les surfaces agricoles européennes correspondaient à 45.5% de l'occupation des sols, dont plus de la moitié sont des sols cultivés. Selon la même source, la surface agricole française (sols cultivés et prairiaux) représentait 59.5% de la surface totale du territoire soit 32 619 100 ha. Les sols prairiaux et cultivés représentent donc une surface importante dont la gestion pourrait servir de levier pour limiter/réduire les émissions gazeuses des surfaces continentales vers l'atmosphère tels que celles de COVs. Cette approche est déjà validée pour la maîtrise des flux de CO₂ (Howden et al., 2007; Six et al., 2004). De plus, des études récentes montrent que les sols peuvent être considérés comme une source majeure de COVs (Faiola et al., 2014), et notamment dans les agrosystèmes (Bachy et al., 2016). Il a déjà été montré que la fertilisation azotée minérale diminue le flux de COVs émis lors de la dégradation des litières (Gray and Fierer, 2012). Il semble donc possible de limiter les flux de COVs par les sols agricoles en adaptant les pratiques culturales. Dans un contexte de transition écologique, de nouvelles pratiques de fertilisation émergent, tel que l'amendement organique des sols avec des digestats de méthanisation. Il est donc nécessaire d'évaluer leurs effets environnementaux. Ces nouvelles pratiques de fertilisation sont liées à la gestion des effluents d'élevage dont les résidus, qualifiés de produits résiduels organiques (PRO), peuvent être valorisés en étant apportés directement aux sols ou méthanisés afin de produire du CH₄. La méthanisation est une technique basée sur la biodégradation de la MO en absence d'oxygène (anaérobie). D'après l'ADEME, cette technique est intéressante pour la gestion des PRO car elle aboutit à la production d'un bio gaz (CH₄), valorisable sous forme d'énergie, et de matières non digérées, appelé digestat (Bastide, 2015). Il est généralement envisagé le retour aux sols de ce dernier.

Les impacts environnementaux des apports de PROs (méthanisés ou non) comme fertilisants des sols agricoles sont encore très mal documentés. On peut, néanmoins, conjecturer que ces nouvelles pratiques de fertilisation organique des sols peuvent avoir un impact à

différentes échelles temporelles. Premièrement, ces pratiques pourraient avoir un effet à court terme par le biais de mécanismes similaires au priming effect ou par l'inoculation de communautés microbiennes spécifiques des PRO. Le priming effect est une augmentation du taux de décomposition de la MO du sol, après un apport de matière organique fraîche, résultant d'une compétition microbienne pour l'énergie (Fontaine et al., 2003). Deuxièmement, à plus long terme, la fertilisation pourrait modifier la trajectoire évolutive des communautés microbiennes et le fonctionnement des sols. En effet il a déjà été montré que la composition des communautés bactériennes d'un même sol est intégrateur des pratiques de fertilisation qu'il a subi à long terme (Enwall et al., 2007). Ces effets sont en partie dus à la modification des déterminants édaphiques, comme le pH, induite par les propriétés physico-chimiques inhérentes aux fertilisants.

En se basant sur ces connaissances, les objectifs de ce chapitre sont :

- i D'estimer l'impact des pratiques de gestion des sols agricoles (prairies et culture) et de fertilisation sur les spectres de COVs émis par les sols. (Article I)
- ii De déterminer si ces pratiques induisent l'émission d'un spectre de COVs par les sols qui leur serait spécifique (Article I)
- iii De quantifier l'effet de l'apport d'un PRO méthanisé sur le spectre de COVs émis par le sol (Article II)

Les usages des terres et les pratiques agricoles entraînent des émissions spécifiques de COVs par les sols

Résumé

Les produits de réaction des COVs dans la troposphère ont un fort impact climatique, tel que l'ozone qui est considéré comme le troisième gaz ayant le plus fort impact sur le réchauffement terrestre global. Les émissions de COVs par les sols sont régulièrement sous-estimées dans les modèles de chimie atmosphérique, mais récemment des études suggèrent que les sols agricoles pourraient être des réservoirs importants de COVs. On sait que les pratiques agricoles, telle que la fertilisation, influencent la production de COVs par les microorganismes des sols. Il est nécessaire d'identifier les régulateurs de ces émissions pour pouvoir maîtriser les impacts climatiques qui en découlent. Dans cette étude, les émissions de COVs de deux prairies à la gestion différente et de quatre sols cultivés avec des pratiques de fertilisation (minérale vs. organique) contrastées ont été suivies pendant deux années consécutives. Les résultats de cette étude montrent que les émissions de COVs ont une variation temporelle en allant de $22 \mu\text{g VOCs h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ à $167 \mu\text{g VOCs h}^{-1} \text{ m}^{-2}$. Il est difficile de définir un pattern, mais la période hivernale, semble être la période où les flux de COVs sont les plus faibles. De plus, les spectres de COVs présentent une spécificité en fonction des usages des sols (sols cultivés vs. prairies) et des pratiques de fertilisation (minérale vs. organique). D'après nos résultats, le pH de l'eau du sol permettrait d'expliquer la richesse du spectre de COVs émis, en régulant la présence des masses faiblement émises. L'ensemble de nos résultats apporte un argument supplémentaire quant à l'utilisation de l'agriculture comme un levier pour la gestion des émissions de COVs par les sols agricoles et de leurs impacts environnementaux.

Authors : Kevin POTARD^{a,b}, Françoise BINET^a, Jean-Pierre CAUDAL^a, Nathalie LE BRIS^a, Jean-Luc LE GARREC^b, Alizée LE MOIGNE^{a,b}, Cécile MONARD^a, Thomas SOLDANO^a

^a Université de Rennes 1, CNRS UMR 6553 ECOBIO, Campus de Beaulieu, 265 Av. Général Leclerc, 35042 Rennes Cedex, France

^b Université de Rennes 1, CNRS UMR 6251, Institut de Physique de Rennes, Campus de Beaulieu, 265 Av. Général Leclerc, 35042 Rennes Cedex, France

3.2 Land-uses and practices in Agriculture result in specific soil VOCs emissions

Article I - En rédaction pour Global Change Biology

3.2.1 Abstract

The reaction products of VOCs in the troposphere have a strong impact on global warming, such as ozone, which is considered as the third gas in terms of radiative forcing. VOCs emissions from soils are regularly underestimated, but recent studies suggest that agricultural soils could be a major reservoir of VOCs. It is known that agricultural practices, such as fertilization practices, influence the production of VOCs by soil microorganisms. It is timely to identify the regulators of these emissions in order to be able to influence the resulting climatic impacts. In this study, VOC emissions from two differently managed meadows and four cropped soils submitted to contrasting fertilization practices (mineral and organic) were followed for two consecutive years. The results show that VOC emissions varied within the two years, ranging from $22 \mu\text{g VOCs h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ to $167 \mu\text{g VOCs h}^{-1} \text{ m}^{-2}$. It was difficult to define a temporal pattern, but the VOC fluxes seem to be the lowest during winter time. In addition, the VOC spectra are specific to land uses (cropped soils vs. meadow) and to fertilization practices (mineral vs. organic amendments). According to our results, the pH of the soil water can explain the richness of the spectrum of VOCs emitted, regulating the presence of weakly emitted masses. These results provide an additional argument for the use of agriculture as a lever to manage VOCs emissions by agricultural soils and their environmental impacts.

3.2.2 Introduction

The human activities are increasingly being recognized as drivers of ecological and evolutionary changes at a global scale (Hendry and Kinnison, 1999; Hoegh-Guldberg and Bruno, 2010; Sih et al., 2011). CO₂ is considered as the primary global warming gas (reviewed in Jacobson (2009)) and, its increasing concentration in the atmosphere is the most documented consequence of human activities (Reddy et al., 2010). Food systems generated 9,800 to 16,900 megatonnes of carbon dioxide equivalent (MtCO₂e) in 2008, 80 to 86% of which is related to agricultural production, particularly related to changes in soil cover (Vermeulen et al., 2012) and the mineralization of soil organic carbon (SOC) into CO₂ (Paustian et al., 2000). However, this SOC mineralization is impacted by agricultural practices such as tillage or soil fertilization (West and Marland, 2002; Sainju et al., 2008). Several debates are taking place on C sequestration and emission by cropped soils, in relation to agricultural practices, in particular fertilization (Izaurrealde et al., 2000). This debate is even more important because CO₂ is not the only gas, to have an impact on global warming, to be emitted by soils of culture.

Indeed, other gases emitted by cropped soils are also responsible for global warming such CH₄ (Wuebbles and Hayhoe, 2002), N₂O (Barnard et al., 2005), and volatile organic compounds (VOCs) (Peñuelas and Staudt, 2009). For N₂O and CH₄, the mechanisms of production and emission by soils and their impacts on global changes are well documented in the literature (Ciais et al., 2014). VOCs are reactive compounds, produced mainly by the biotic compartment (Guenther et al., 1995) including plants and microorganisms. Due to their high chemical reactivity, VOCs have an extremely short half-life in the atmosphere, ranging from one second to few days (Atkinson and Arey, 2003b), which leads to a low direct impact on global change. Nevertheless, VOCs have a strong impact by altering, through chemical reactions, the distribution of other gases such as NO_x and tropospheric ozone (reviewed in Atkinson (2000); Kansal (2009)). Ozone tropospheric is a key pollutant in the photochemical smog events (Calfapietra et al., 2009; Chameides et al., 1988) that is the third most important greenhouse gas (GHG) after CO₂ and CH₄ (Solomon et al., 2007). In addition VOCs and their chemical reaction products have a direct effect on human health (Giusti, 2009; Tager et al., 2005), and short- or long-term exposure to them leads to increased mortality (Kampa and Castanas, 2008; Bell et al., 2004).

Despite these environmental and health issues, the mechanisms of VOCs emissions and their regulation are not yet understood. Historically, research field studies targeted the emissions of plant-derived VOCs (Arey et al., 1991; Faubert et al., 2012; Peñuelas and Llusà, 2002) or those produced during the decomposition of litter (Asensio et al., 2012; Gray and Fierer, 2012; Leff and Fierer, 2008). Up to now, VOCs emitted by soils have been rarely studied because their fluxes were considered negligible, from ten to hundred times weaker than plant emissions (Peñuelas et al., 2014). However, this paradigm, has

been recently challenged since VOCs emissions from bare soils and cropped soil were shown to be similar (Bachy et al., 2016). So the cropped soil could be a reservoir of VOCs so far underestimated. This debate proves that understanding the mechanisms of VOCs emissions by the soils as well as the quantification of their fluxes are a challenge for the coming researches.

In soils, VOCs are produced during microbial biodegradation of soil organic matter (Ramirez et al., 2010; Stahl and Parkin, 1996) or for microbial communication processes (Effmert et al., 2012; Schulz and Dickschat, 2007). Several studies, on soil native microorganisms, have shown that there is a strong link between the composition of microbial communities and the VOCs spectra (Bunge et al., 2008; Müller et al., 2013; Stahl and Parkin, 1996) going as far as demonstrating the existence of a specific chemical fingerprint during the development of some fungi (Moullarat et al., 2008). It is known that the diversity and physiology of microorganisms are sensitive to changes in edaphic conditions (Garbeva et al., 2004; Leifeld and von Lützow, 2014); hence, changes in the soil properties should impact the VOCs spectra emitted by soil microorganisms.

Land uses in agriculture have a direct influence on soil, impacting both its abiotic and biotic components. The agricultural practices known to have an impact on microorganisms and VOCs emissions are tillage (Frey et al., 1999), mineral (Gray and Fierer, 2012) or organic fertilization (Potard et al., 2017). The regular inputs of organic fertilizers lead to modifications of soil properties by increasing the total soil porosity for example (Obi and Ebo, 1995; Pagliai et al., 1981).

Regarding the biotic components of the soil, the literature provides evidence of multifactorial drivers of the microbial community composition and activity. For example, tillage is known to destroy fungal mycelia (Frey et al., 1999) whereas in mechanically undisturbed soils the biomass of fungi increases (Six et al., 2006). In fact, in these soils the fungal degradation activity can be up to 13.5 times more important than the bacterial one (Bailey et al., 2002). The ecological roles of microorganisms can also be modified depending on the application of fertilizers. For example, it has been shown that archaea are the main ammonia oxidizers in low fertilized acidic soils while bacteria hold this dominant role in managed fertilized soil systems (Chen et al., 2013).

The management of the trace gas fluxes is already validated for CO₂, CH₄ and N₂O emissions, for which agriculture is seen as a major lever to regulate the impact of these GHG on global changes (Ciais et al., 2014; Vermeulen et al., 2012; Challinor et al., 2014). Moreover, in the context of ecological transition which promotes changes in land-uses and agricultural practices, such as the reduction of mineral inputs and the management of livestock manures it is timely to assess the effect of these practices on VOCs emissions by soils and thus their environment impacts. Especially since it has been shown that organic fertilization practices such as pig slurry amendments increase the emissions of methanol by soil up to one month after the input conversely to amendments of its digested by-

product (Potard et al., 2017). Another recent study showed that the addition of mineral nitrogen during the process of OM decomposition led to an inhibition of the flux of VOCs depending on the inherent composition of the OM (Gray and Fierer, 2012).

All the literature together, there is a need to understand how and to what extent different agricultural practices affect the emissions of VOCs from soil to the atmosphere. However the assessment of the impact of agricultural practices on VOCs emissions suffer from a lack of monitoring of VOCs emissions over time and space, specifically in agricultural landscapes (Bachy et al., 2016). Predicting the contribution of agriculture in VOCs emissions by soils requires the identification of the drivers that are probably multifactorial for limiting the uncertainties of the VOCs emission process. In this line, the aim of the present study was to determine i) the temporal dynamics of VOCs emitted by agricultural soils, ii) the specificity of VOCs spectra according to the land uses and agricultural practices and iii) the pedoclimatic properties that regulates VOCs emissions from agricultural soils. We hypothesized that different agricultural practices result in specific biological functioning of soils that will be reflected in specific VOCs spectra and fluxes emitted by soils. We monitored the on-field VOCs spectra emitted by agricultural soils submitted to different land uses (crops or meadows) and agricultural practices (organic or mineral fertilization) for two consecutive years. We identified some specific VOCs spectra emitted by the soil depending on soil properties regulated by agricultural practices and uses. In addition, we identified that the quality of the labile organic matter was the main abiotic factor regulating the VOCs fluxes.

3.2.3 Material and Methods

Site description

A two-year monitoring of VOCs emitted by soils was performed on agricultural fields that pertain to two long-term observatories (the EFELE and ZAAR sites launched by the French national agronomic centre and the French national research centre, respectively) dedicated to study the relationships between agriculture and environmental issues. The two observatories are located in the surrounding of Rennes in Brittany in the north western of France. This area refers to the oceanic temperate climate (mean rainfall of 694 mm year⁻¹ and mean annual temperature of 12°C) and is representative of the Brittany agriculture mainly based on typical dairy production and pig farming. For the present study, crops and meadows differently managed were selected from the EFELE and the ZAAR, respectively. The EFELE site is conventionally cropped with an annual winter wheat/silage-maize rotation; it comprises 36 plots differently amended with organic manures (nine manure treatments in four replicates). For the present study, the cropped fields selected were : unfertilized (control), N-fertilized (N), pig slurry amended (PS) and methanized pig slurry amended (MPS) maize/wheat crops. From the ZAAR site, two

types of meadows were selected : (i) a wet permanent meadow, localized at the bottom of the watershed and lowly managed (pasture) and (ii) a drained meadow, localized at the top of the slope and managed for hay production and/or grass silage. In total, six types of agrosystems, each in three replicates (i.e 18 field plots) were under study for which the mean soil characteristics are given in the table 3.1.

The cropped soils are silty clay and slightly acid (pH 5.8) with a low organic carbon content ($\approx 1 \text{ mg g}^{-1}$) (Table 3.1). The meadows soils are sandy clay and acid (pH 5) with high organic carbon content (2.68 mg g^{-1} and 1.96 mg g^{-1} for wet meadow soil and drained meadow soils, respectively). The soil chemical properties are considered as distinct between the cropped and meadow systems and between the two meadows but not between the different cropped soils despite their contrasting management of fertilization.

TABLE 3.1 – Soil characteristics of the six different agrosystems (each in three replicates). The crops refer to annual winter wheat/maize rotation and the meadows refer to permanent meadow in down or top slopes. N_{tot} (mg g^{-1}) : mg of total nitrogen per gram of dry soil. C (mg g^{-1}) : mg of organic carbon per grams of dry soil ; Silt (%), Clay (%) and Sand (%) : Relative abundance of the soil texture classes as a percentage by mass. The values represented by the same lower-case letter are not significantly different at $P < 0.05$.

Agrosystem type	Nutrient				Texture		
	pH	OC mg g^{-1}	N_{tot} mg g^{-1}	C/N	Clay (%)	Silt (%)	Sand (%)
<i>Unfertilized maize/wheat crop</i>	5.9 ± 0.2^a	1.01 ± 0.04^b	0.12 ± 0.01^b	8.4	15^b	70^a	15^c
<i>N-fertilized maize/wheat crop</i>	5.6 ± 0.2^a	1.03 ± 0.06^b	0.14 ± 0.01^b	7.4	15^b	68^a	18^c
<i>Pig slurry maize/wheat crop</i>	6.0 ± 0.2^a	1.11 ± 0.09^b	0.13 ± 0.02^b	8.5	14^b	72^a	14^c
<i>Methanised Pig Slurry/wheat crop</i>	5.9 ± 0.4^a	1.06 ± 0.01^b	0.13 ± 0.01^b	8.1	16^b	72^a	12^c
<i>Wet down slope meadows</i>	5.0 ± 0.3^b	2.68 ± 0.2^a	0.29 ± 0.02^a	9.2	20^a	34^b	46^b
<i>Drained up slope meadows</i>	5.1 ± 0.2^b	1.96 ± 0.3^a	0.22 ± 0.03^a	8.9	16^b	31^b	53^a

On field gas samplings

In January 2015, a stainless-steel baseplate was permanently placed in each 18 selected field plot allowing gas sampling gases at the same place during the 2 years monitoring. Gas monitoring was always done during the daylight between 10 am and 6 pm. Gases were sampled by placing a 12,5 liters stainless-steel cylindrical top-chamber on the baseplates to isolate the air inside the chamber from the ambient air. The top of the chamber is glazed to allow photosynthesis even during the sampling. The chamber was equipped with a fan running at 150 rounds per minute (rpm) to homogenize the indoor air during the sampling time. The chamber was first flushed during 10 minutes with ultra-pure air (Air zero alphagaz 2, Air liquide) at a flow rate of 5.5 L.min^{-1} allowing the entire inside air to be refreshed about three times in order to remove all ambient trace gases present in the air before the sampling. A six liters SilcoCan canister® was then connected to the

chamber and filled in at a flow rate equal to 0.210 liter per minute while, at the same time, ultra-pure air was also injected at the opposite side of the outlet and at the same flow rate to prevent any variation of pressure inside the chamber. The analysis of the sampled gas was made in the laboratory within 24 hours to prevent any chemical degradation and to ensure a good quality of the gas samples. All the field plots were monitored (gas, soil and climate), on average, once every two months, making 12 sampling points over the two years. The VOCs signature of each type of agrosystem was then calculated from 36 spectra. In total, 216 VOCs spectra emitted by soil of both crops and meadows were collected and analyzed.

PTR-MS determination of VOCs concentrations and fluxes

VOCs concentrations were measured by using a Proton Transfer Reaction-Mass Spectrometer (Ionicon PTR-MS Compaq QMS 300) (Lindinger et al., 1998) in the same settings as described in Potard et al. (2017). The VOCs fluxes (F_{VOCs}) in $\mu\text{g VOCs s}^{-1} \text{ m}^{-2}$ was calculated for each masses using the equation (1) :

$$F_{VOCs} = \frac{Q}{A} * m_{VOCs} * \frac{M_{vocs}}{VM} \quad (2)$$

where m_{VOCs} is the VOCs concentration (ppbv), Q is the flow rate ($\text{m}^3 \text{ s}^{-1}$) of the sampling, A (0.128 m^2) is the soil area enclosed by the baseplate, M is the molecular weight of carbon in kg kmol^{-1} , VM is the molar gas volume in $\text{m}^3 \text{ kmol}^{-1}$ (23.23 at 1013.25 hPa and 283 K (10°C), 24.05 at 1013.25 hPa and 293 K (20°C) and 24.82 at 1013.25 hPa and 303 K (30°C)) and M_{vocs} is the molecular mass in amu (atomic mass unit) determined by the PTR-MS.

Monitoring of the abiotic compartment

The climatic conditions prevailing above the soil surface and within the soil were measured as far as possible in parallel to the VOCs sampling during the 2 years monitoring. For each site, the atmospheric pressure was provided by a weather station (Campbell Scientific) located from few meters up to a maximum of 2.5 km of the VOCs sampling sites. The ambient air temperature and moisture inside the chamber were measured by using a sensor (Wifi Th+ ; Society Corintech) that was placed in the centre of the baseplate all along the gas sampling. Three measurements were made during the course of the gas sampling, and were averaged and used in the calculation of the air-to-ground temperature gradient in °C. The soil temperature was measured using a PT 100 sensor (Wifi Tp+ ; Society Corintech) placed at 10 cm depth of the soil at the vicinity of the baseplate. To take account any variation of temperature during the monitoring each value correspond at an averaged from the starting and the ending of gas sampling. Both ambient air and soil

temperature were used in the calculation of the air-to-ground temperature gradient in °C. The physico-chemical properties of the soil of each selected field were also determined. The soil moisture content was estimated by the difference between fresh soil weight and oven dried soil at 105 °C for 48h. The water pH was measured according to the NF ISO 10390 protocol. The water extractible organic matter (WEOM) was obtained by the method described in Zsolnay and Görlitz (1994) and its carbon content was quantified using a total dissolved organic carbon analyzer (Bioritech OI-Analytical 1010, United Kingdom). The total nitrogen content of the WEOM was quantified using the analytical method No G-172-96 Rev 6 of manufacturer Bruen Luebe (Seal analytical, United Kingdom).

Statistical Analysis

All the data analyses were run using the R statistical software (v3.1.358; R Core Team, 2014). The homoscedasticity and the normality of the data were controlled visually with the package "DHARMA" (Hartig, 2017). To test whether (i) the richness of VOCs spectra, or (ii) their diversity and the total VOCs fluxes were linked to the environmental drivers measured (relative humidity in the air, atmospheric pressure, temperature gradient from air to soil, WEOM content and C/N ratio of the WEOM), ANOVA analyses were performed using the linear mixed effect model and the general linear mixed effect model procedures, respectively, by using the packages "lme4" (Bates et al., 2014) and "MuMIn" (Barton, 2016). The mean VOCs spectra were calculated using a LDA analysis performed with the package "MASS" (Venables and Ripley, 2002).

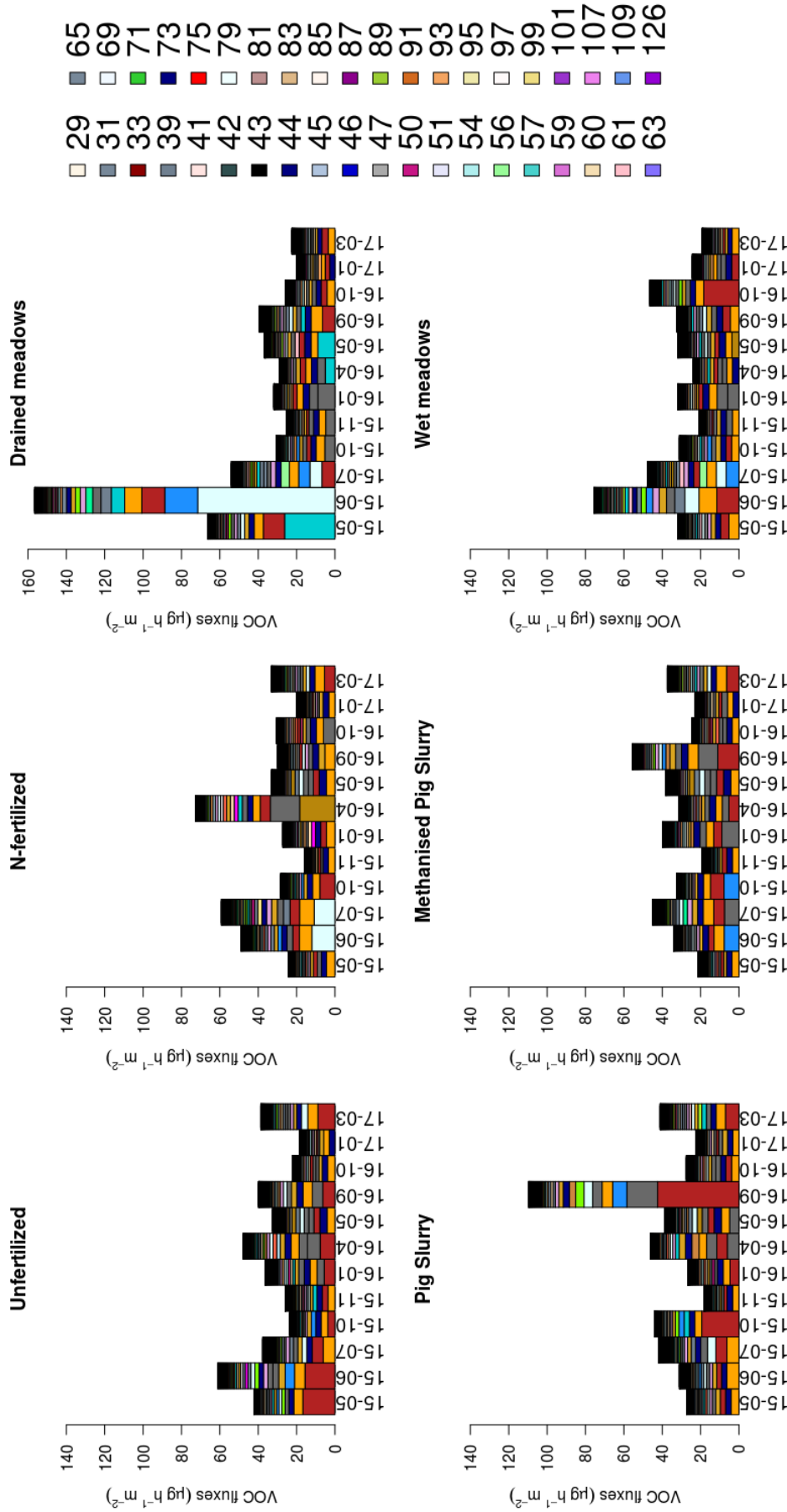


FIGURE 3.1 – Times pattern of VOCs fluxes ($\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$) emitted by soils from the six different agrosystems ($n=3$ replicates) according to year and the months of sampling. For each sampling VOCs, the masses were ordered in ascending order

3.2.4 Results

VOCs spectra emitted by soils in different agrosystems

On-field soil VOCs signatures of agrosystems were composed of 40 different masses in total in the course of the 2 years monitoring. Each gas sample was composed from 17 up to 30 masses (amu) and this VOCs richness was similar between agrosystems. However masses differed in their frequency of emission. In the entire dataset, the rank-frequency diagrams deduced from the VOCs spectra show that the first and second ranks (dominant masses) were only occupied by 13 of the 40 observed masses, such as methanol (m33), acetone (m59) and toluene (m93) (Fig.3.1).

If we focus on agricultural practices, we identified from 4 up to 9 different dominant masses (ranked first or ranked second) in the unfertilized plots of the EFELE site and the drained meadows, respectively. Moreover several dominant masses were specific to each type of agrosystems. For example, the mass 83 was the most contributive one in the drained meadows while the mass 47 was never detected as dominant in the unfertilized plots.

TABLE 3.2 – Pedologic and climatic variables used in statistical model, [Global Linear Model mixed Effect (G) or Linear Model mixed Effect (L)] and their significance in the explication of the VOCs richness, diversity and fluxes. The values represented by the same lower-case letter are not significantly different at $P < 0.05$. WEOM : water extractible organic matter in percent of dry soil; C/N : carbon of WEOM to Nitrogen of WEOM ratio; pH : soil water pH; soil moisture (%) : soil moisture in weight percent; Rh (%) : relative humidity in volume percent; Grad. T°C (a-s) : Gradient of temperature in °C from soil to air; Atm pressure : atmospheric pressure in kPa.

Variables	Richness (L) $R^2=13.1\%$			Diversity (G) $R^2=2.1\%$			Fluxes (G) $R^2=68.6\%$		
	Chisq	P-value	Estimates	Chisq	P-value	Estimates	Chisq	P-value	Estimates
WEOM (%)	2.9	0.09	–	0.03	0.85	–	0.9	0.35	–
C/N	1.0	0.32	–	0.74	0.39	–	4.8	0.03	(-) ^a
pH	6.1	0.013	(-)	6.7	<0.01	(+) ^a	3.8	0.05	–
Soil moisture (%)	2.0	0.16	–	0.94	0.33	–	1.3	0.25	–
Rh (%)	0.6	0.43	–	0.25	0.61	–	8.9	<0.01	(+) ^c
Grad. T°C (a-s).	3.2	0.07	–	0.37	0.54	–	4.3	0.037	(-) ^b
Atm pressure	3.6	0.6	–	8.02	<0.01	(-) ^b	0.01	0.90	–

No relationships between the VOCs richness and the climatic and soil characteristics under examination was observed, except for the soil pH (p-value=0.01 ; Chisq = 6.13, table 3.2). Indeed, the richness of VOCs emitted by soil decreased when the soil water pH changed from slightly acid to the neutrality.

By using linear discriminant analysis (LDA) on the entire VOCs dataset, we mainly showed that VOCs were differently emitted by soil depending on the agrosystem (Table 3.3). The crops of EFELE and the meadows of ZAAR, corresponding to different land uses

and pedological features, were discriminated with 93% and 83% of success, respectively (Table 3.3). Within the crops, the fertilization practices were discriminated with at least of 83% of success and within the meadows, the wet meadows were discriminated from the drained ones with a success rate of 87.5%. A total of 27 masses out of the 40 detected allowed the differentiation of the 6 types of agrosystems (Fig. 3.2; p-value <0.05). For example, the mass 109 (cresols) was systemically more emitted in meadows than in cultivated soils and was discriminant to separate the EFELE site from the ZAAr site.

For example, the mean spectrum of the N-fertilized crop was characterized by a high concentration of m47 (29 ppb ethanol) against four ppb for control plot. Also, soils amended with either pig slurry or mineral nitrogen emitted significantly more m97 (heptanal, (p-value<0.01)) than all the other fields.

TABLE 3.3 – Probability calculated from all masses (40) of VOCs spectra. The Linear Discriminant Analysis (LDA, R (3.1.2.)) was used for predicting the different types of agrosystems depending on their land uses and practices.

<i>Land uses</i>	<i>practices</i>	<i>Prediction probability by chemotyping (%)^a</i>	
<i>Crops</i>		93	
	Control		92
	N ⁺		92
	MPS		83
	PS		83
<i>Meadows</i>		83	
	Drained managed		87
	Wet unmanaged		88

According to the table 3.1 the VOCs spectra emitted by the cropped soils had a higher diversity than the one from the meadow soils. However, the diversity was poorly explained by the abiotic factors measured (2.1%; table 3.2). For example, higher atmospheric pressure induced a lower diversity in the VOCs spectra emitted by soil.

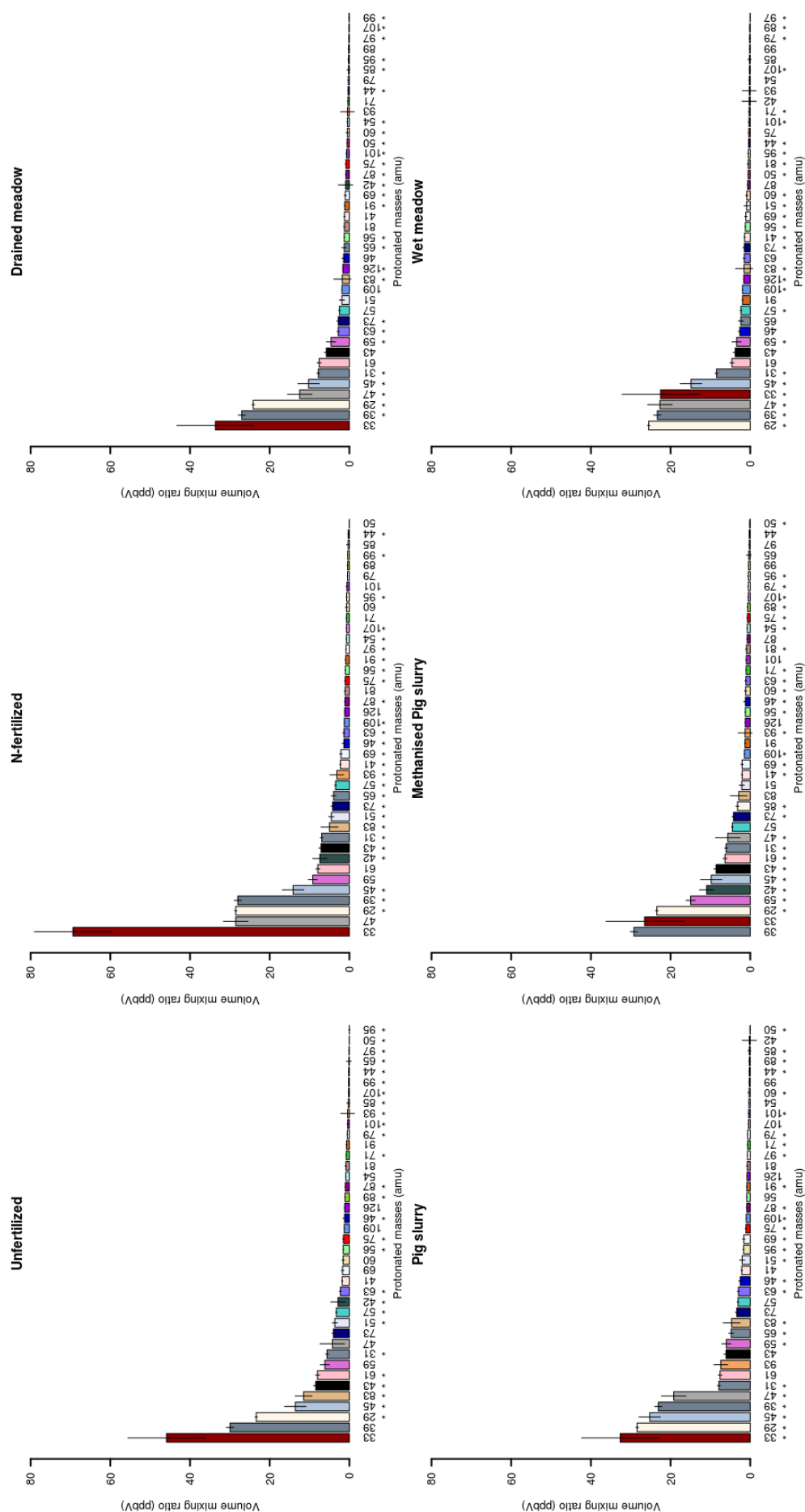


FIGURE 3.2 – Frequency rank diagram of the mean-profiles of VOCs spectra emitted by soils from each agrosystem (concentration, ppb) according to the practices (EFELE : Control ; N ; PS; MPS/ZAAR : Drained ; Wet). Mean profiles of each agrosystem were calculated on the 216 spectra with Linear Discriminant Analysis. The bars represent the standard errors of masses for the same data. * : masses that were significant to discriminate the different agrosystems

2-year dynamics of soil VOCs fluxes

VOCs fluxes emitted by soil varied with time, with alternate periods of low (fluxes lower than $30 \mu\text{g VOCs h}^{-1} \text{ m}^{-2}$) and high emissions (fluxes higher than $50 \mu\text{g VOCs h}^{-1} \text{ m}^{-2}$), sometimes peaking up to $167 \mu\text{g VOCs h}^{-1} \text{ m}^{-2}$ (Fig. 3.2). For example, the VOCs fluxes emitted by the unfertilized control plots were the lowest in October and November 2015, in October 2016 and in January 2017 but the highest in May and June 2015, April 2016 and March 2017 (Fig. 3.1).

There was no clear pattern of neither the alternance nor the peaking between all the agrosystems, except that the lowest VOCs emissions were commonly between October and January and the one with the highest emissions were commonly between May and September.

Sporadic high VOCs fluxes were recorded in both the pig slurry amended crops, and the drained meadows, reaching 110 and $167 \mu\text{g VOCs h}^{-1} \text{ m}^{-2}$, on the 16-09 and 15-06, respectively (Fig. 3.1). These highest VOCs fluxes were due to an increase in the emission of i) methanol (mass 33) and ethanol (mass 47) for fields amended with pig slurry and ii) acetone (mass 59) and acetonitrile (mass 42) for the drained meadows. The molecular fluxes of VOCs were explained at 68.6% by the abiotic factors measured. Soil VOCs fluxes were shown to be negatively linked to the C/N ratio of the WEOM (p-value=0.028; Chisq = 4.81; table 3.2) that was the most explicative variable according to the estimates calculated by the model. The temperature gradient from air to soil was the second most important significant variable explaining the VOCs fluxes (p-value = 0.038; Chisq = 4.32; table 3.2) with an increase in VOCs fluxes when the soil was warmer than the air. Finally, we observed that the total VOCs fluxes significantly increased with the relative humidity within the sampling chamber (p-value<0.001; Chisq=8.87; table 3.2).

3.2.5 Discussion

Drivers of the Soil VOCs fluxes emitted by agrosystems

To our knowledge, this study is the first to analyze the time pattern evolution of VOCs spectra emitted by agricultural soils over the long term. In the context of our study, a temporal variation in the VOCs fluxes was observed. Several studies have already observed this phenomenon on forests (Asensio et al., 2007a), meadows (Fukui and Doskey, 1998), shrubland (Asensio et al., 2008) and at the European scale (Oderbolz et al., 2013). However, these studies focused on plant emissions or selected VOCs emitted by soil making comparison with the present study hazardous in terms of temporal pattern of emission.

The statistical analyses translate that a strong variation of atmospheric factors is needed to influence the prediction of total VOCs fluxes because there are the less explanatory measured variables. In fact, the atmospheric parameters are directly related to the emission and not to the VOCs production. Therefore, prior production of VOCs has to occur before these parameters could regulate the fluxes.

A specific spectral signature of soil management

In this study, we have shown that the richness of VOCs emitted by soil decreased when the soil water pH changed from slightly acid to the neutrality. The modification of VOCs adsorption by the pH of soil could explain this relationship between the pH and the richness of the VOC spectra. Nevertheless, despite soil pH values varying between 6.1 and 8.2, no effect on the adsorption of VOCs by the soil was shown by the study of Petersen et al. (1995).

Several studies (Högberg et al., 2006; Lauber et al., 2009; Rousk et al., 2010) have shown that a strong relation between the microbial communities and soil pH exists. For example, a decrease in soil pH induces an increase of the fungi to bacteria ratio (Bååth and Anderson, 2003). Such changes in microbial communities should induce modification in the richness of the VOCs spectra produced since it has been known that, under laboratory conditions, fungal communities emit different VOCs spectra than bacteria communities (Stahl and Parkin, 1996). However, these studies on the effect of soil pH on microbial communities focused on a wider pH range than in our case. For example, (Rousk et al., 2010) have studied a pH range from 8.3 to 4.5, while in our case the pH ranged from 6.4 to 4.5.

The soil pH also influences the degradation activity of soil microorganisms towards organic matter (Ladlie et al., 1976; Singh et al., 2003a). These changes in microbial degradation activity might impact both the production of VOCs through microbial degradation of SOM and the regulation of VOCs emissions through their microbial consumption as C source. Variations in the pH of the soil could thus induce a different degradation and explain why certain masses, little abundant, disappear when the pH of the soil is close to neutrality. These types of influence, ie the disappearance of the low contribution masses, permit to explain why the total VOCs fluxes are not explain by soil pH.

Herein the study, we have discovered the existence of VOCs spectra specific to land uses (meadows or cultivated soil) and agricultural practices (meadow management and fertilization practices). Such results have already been observed in laboratory conditions by Seewald et al. (2010), who identified specific VOCs patterns emitted by soils sampled

from long-term experimental sites under different fertilization practices. In their study, the VOCs pattern was related to variation in bacterial communities. In our field study, it was more difficult to relate the specificity of VOCs spectra to microbial communities, because the physico-chemical properties also varied significantly between some of the agrosystems studied (table 3.1). Anaerobic microbial activity has also been shown to have a strong impact on VOCs spectra diversity (Seewald et al., 2010), so a difference in the VOCs spectra emitted by the drained and wet meadows was expected. However, it is not possible to say whether this difference was related to changes in edaphic properties, in microbial activity or both. Within the cropped soil, the measured soil characteristics could not discriminate the different fertilization practices, however, each of them induced the emission of a specific VOCs spectrum by soil. In addition, it is known that organic and inorganic amendments have an impact on the structure and activity of microbial communities in agricultural soils (Enwall et al., 2007). These elements allow to suggest that the specificity of the VOCs spectrum described for the cropped soil could be linked to a modification in the structure and activity of the microbial communities.

VOCs emissions by agricultural floors are driven by soil

During this two years monitoring, the cover of the cropped soil have changed several times, varying from maize, wheat, N fixing crops and no crops (bare soil). It has been shown that wheat have a VOCs signature composed only by oxygenated VOCs (König et al., 1994), while maize emits a VOCs signature with isoprenoids (Holopainen and Gershenzon, 2010). Moreover, the composition of VOCs spectra emitted by plants is strongly impacted by the season (Asensio et al., 2008; Llusà and Peñuelas, 2000) and the flowering state of the plant (König et al., 1994). Based on these facts, if the VOCs spectra measured in the present study would have been dominated by plant emissions, we would have expected stronger modifications of the VOCs spectra according to the season and the plant cover than according to the fertilization practices as we observed with the LDA. Moreover, in the case of the EFELE site, it was possible to differentiate the fertilization practices from the VOCs spectra emitted by soils during a same year and under an identical plant cover, in april 2016 for example. Finally, for a unique fertilization practice, the VOCs spectra emitted by bare soils were not differentiable from those emitted when soil was cropped with plant, whether it was maize, wheat or N fixing plants. In the present study, the soil by itself could therefore be considered as the main driver of the VOCs spectra emitted by the agricultural floor (soil and plant). This result disagrees with the information given by Peñuelas et al. (2014) who stated that the flux of VOCs emitted by the soil is lower than the one from plant. However, they are in accordance with Bachy et al. (2016) who have suggested that soil might be the major reservoir of VOCs in agricultural landscapes. Thus our results, associated with those of Bachy et al. (2016), reinforce the idea that the management of terrestrial VOCs fluxes will pass through agricultural practices. It

is thus necessary to identify the different links between agricultural practices and VOCs emissions.

Toward the reduction of the impact of VOCs on global change by the agricultural practice

Herein the study, we have shown that the total VOCs fluxes varied between 22 and 167 $\mu\text{g VOCs h}^{-1} \text{ m}^{-2}$. These biogenic VOCs play a dominant role in the chemistry of the lower troposphere and atmospheric boundary layer (Fuentes et al., 2000). The majority of VOCs are rapidly removed via physical and chemical processes in the troposphere and have short atmospheric life time (from minutes to days). This means that most of the VOCs have a negligible global warming potential and does not contribute directly to the radiative forcing of climate change, although their indirect effects are important (Mellouki et al., 2015). VOCs could be indirectly responsible of the increase of the radiative forcing of 0.40 W/m^2 (IPCC, 2013). According the same source, the radiative forcing of methane is 0.50 W/m^2 and the one of N_2O is 0.20 W/m^2 . Tropospheric ozone is an important greenhouse gas, responsible for approximately 17% of the total anthropogenic radiative forcing since 1750, corresponding to 2.29 W m^{-2} . Moreover, ozone is an extraordinarily important species in atmospheric chemistry. Its photolysis leads to the formation of OH radicals whose subsequent reactions determine the atmospheric life times of most species in the atmosphere (Mellouki et al., 2015).

Oxygenated organic compounds including, those containing sulfur- and nitrogen, are ubiquitous components of tropospheric aerosols. Aerosols scatter incoming solar radiation, absorb outgoing longwave radiation, and play an important role in climate. Aerosols are also important in terms of visibility degradation and have human health impacts (Davidson et al., 2005; Mellouki et al., 2015). However, despite the many studies (Atkinson, 2000; Atkinson and Arey, 2003a,b; Mellouki et al., 2015) on the tropospheric chemistry of VOCs, it does not seem possible to classify the VOCs according to their dangerousness on the climate. In this study, we showed that for a cultural practice there is a specific VOCs spectrum and therefore by extension a different climate impact. This leads to the conclusion that it is possible to manage the impact of VOCs on climate and air quality through agricultural practices.



Contents lists available at ScienceDirect

Agriculture, Ecosystems and Environment

journal homepage: www.elsevier.com/locate/agee



Review

Organic amendment practices as possible drivers of biogenic Volatile Organic Compounds emitted by soils in agrosystems



Kevin Potard^{a,b}, Cécile Monard^a, Jean-Luc Le Garrec^b, Jean-Pierre Caudal^a, Nathalie Le Bris^a,
Françoise Binet^{a,*}

^a Université de Rennes 1, CNRS UMR 6553 ECOBIO, Campus de Beaulieu, 265 Av. Général Leclerc, 35042 Rennes Cedex, France

^b Université de Rennes 1, CNRS UMR 6251, Institut de Physique de Rennes, Campus de Beaulieu, 265 Av. Général Leclerc, 35042 Rennes Cedex, France

Les pratiques d'amendement sont des régulateurs possibles des émissions de composés organiques volatils biogéniques par les sols agricoles

Résumé

Nous avons étudié dans quelles mesures les pratiques d'amendements organiques des sols, par du lisier de porc (PS) ou du digestat de lisier de porc (MPS), affectaient les communautés bactériennes actives du sol par rapport aux parcelles de contrôle sans fertilisation (C). Et en quoi ces changements influençaient la diversité et le flux de C lié aux composés organiques volatils (COVs) émis par les sols. Les effets à long terme de l'historique de fertilisation et l'impact à court terme des intrants organiques ont été étudiés en mesurant les émissions de COVs à l'aide d'un PTR-MS et en analysant la diversité bactérienne active par séquençage MiSeq Illumina juste avant et jusqu'à 64 jours après les apports.

Les émissions de COVs par les sols (diversité et flux) variaient avec la température et les précipitations, indépendamment des intrants de lisier. Un an après le dernier apport organique et après 5 ans de fertilisation annuelle, aucun effet des pratiques de fertilisation n'a été observé sur la composition des communautés bactériennes et sur les émissions de COVs par les sols. Cependant, quelques jours suivant leur apport, les deux intrants organiques (PS et MPS) ont été associés à une inoculation de γ -Proteobacteria (*Pseudomonas* sp. et/ou *Marinospirillum* sp.) dans les sols. De plus l'apport de lisier de porc a activé *Bacillus* sp. (Firmicutes) qui est une bactérie indigène de ces sols.

Les spectres de COVs étaient principalement dominés par le méthanol et l'acétonitrile, les émissions d'acétonitrile ne dépendant pas des apports organiques. Les flux de C-COVs du sol vers l'atmosphère ont varié de 12 à 76 μg de C-COVs $\text{h}^{-1} \text{m}^{-2}$ dans les parcelles témoins sans apport. Le lisier de porc et le digestat de lisier de porc ont différemment impacté les émissions de COV par les sols : les apports de PS ont doublé les flux de C-COVs en raison de l'augmentation de l'émission de méthanol, tandis que les apports de MPS ont réduit les flux de COVs, à des valeurs moindre que celles observées dans les parcelles contrôle non amendées. Ces résultats sont d'un grand intérêt dans le contexte de l'atténuation des émissions de gaz à effet de serre dans les paysages agricoles. Nos résultats suggèrent que les flux de COVs par les sols pourraient, dans certaines conditions, ne pas être marginaux par rapport aux flux de COVs issus des plantes et être potentiellement régulés par de nouvelles pratiques en l'agriculture.

3.3 Organic amendment practices as possible drivers of biogenic Volatile Organic Compounds emitted by soils in agrosystems

Article II - Publié dans Agriculture, Ecosystems and Environnement

Highlights

- Manure fertilizations were associated with living γ -Proteobacteria inoculation to soil.
- Pig slurry activated native soil *Bacillus* sp. but not the methanized pig slurry.
- Pig slurry input doubled C-VOC fluxes emitted into the air due to high methanol emissions.
- Methanized pig slurry lowered C-VOC fluxes under those of the control plot.
- Cropped soil emitted significant amounts of acetonitrile irrespective of manure fertilization.

3.3.1 Abstract

We investigated whether perennial soil organic amendments of pig slurry (PS) and methanized pig slurry (MPS) affect active bacterial communities and change the diversity and the C-flux of Volatile Organic Compounds (VOCs) emitted by soils compared to control plots without any fertilization (C). The long term effects of the fertilization history of the amendments and the short term impact of the organic inputs were both investigated by measuring VOCs emissions using a Proton Transfer Reaction-Mass Spectrometer (PTR-MS) and by analyzing active bacterial diversity by MiSeq Illumina sequencing just before and up to 64 days following the inputs. Soil VOCs emissions (diversity and fluxes) naturally varied with temperature and rainfall variations, irrespective of manure inputs. No effect of the 5-yr fertilization history was observed on bacterial communities' composition and on soil VOCs emissions. However, both manure inputs (PS and MPS) were associated with an inoculation of γ -Proteobacteria (*Pseudomonas* sp. and/or *Marinospirillum* sp.) to the soil on top of which PS inputs activated native soil *Bacillus* sp. (Firmicutes). VOCs spectra was mainly dominated by methanol and acetonitrile, the acetonitrile emissions not depending on the organic practices. C-VOCs fluxes from the soil to the atmosphere varied from 12 to 76 μg of C-VOCs $\text{h}^{-1} \text{m}^{-2}$ in the control plots. Pig slurry and methanized pig slurry differentially impacted soil VOCs emissions : PS inputs doubled the C-VOC fluxes due to high emission of methanol while MPS inputs reduced VOCs fluxes even less than the control unamended plots, which is of great interest in the context of mitigating greenhouse gases in agriculture. Our results suggest that soil fluxes could, under certain conditions, not be marginal compared to plant fluxes and be potentially driven by new land-uses in agriculture.

3.3.2 Introduction

Terrestrial ground directly contributes to global warming being a source of gases that are emitted from the soil to the troposphere (Insam and Seewald, 2010a; Oertel et al., 2016). Such emissions mainly concern carbon dioxide (CO_2) along with trace gases such as methane (CH_4) and nitrous oxide (N_2O) (Lashof and Ahuja, 1990). Although quantities of CH_4 and N_2O released are minimal compared with that of CO_2 , these gases are much more effective in absorbing and re-emitting infrared radiation, and though only being released as traces by the ground, their climate impact is important (Hansen et al., 1989). Other trace gases emitted from ground to atmosphere are the volatile organic compounds (VOCs). Natural biogenic processes constitute the main sources of VOCs released into the atmosphere (Atkinson and Arey, 2003a; Lamb et al., 1993, 1987). Indeed, it has been estimated that every year up to 1200 Tg of VOCs are released into the atmosphere which is almost three times the emissions of CH_4 (Denman et al., 2007) and out of which 90% are biogenic VOCs emitted by vegetation land cover (≈ 1100 Tg C per year) (Atkinson and Arey, 2003b). This is thus tenfold the amount of VOCs emitted by anthropogenic activities (industries, domestic heating and road traffic).

VOCs (isoprene, terpenes, alkanes, alkenes, alcohols, esters, carbonyls, and acids) play an important role in both atmospheric chemistry and pollution and indirectly contribute to global warming. Once in the troposphere at a level ranging from part per trillion (ppt, 10⁻¹²) to several part per billion (ppb, 10⁻⁹) (Kesselmeier and Staudt, 1999), they are transformed by the chemical process of photolysis, reacting either with hydroxyl radicals (during the daylight hours), or with nitrate radicals (during the nighttime), thus increasing greenhouse gas (GHG) concentrations (Atkinson and Arey, 2003b). Biogenic VOCs are thus involved in the modification of the atmospheric chemistry through the formation of tropospheric ozone (O_3) that is the third most important GHG (IPCC, 2014) having an impact on global warming similar to that of CH_4 (Arneth et al., 2008). Recently, it has been suggested that biogenic VOCs, because they can be precursors of tropospheric O_3 , could be responsible of loss of crop production in agriculture (Avnery et al., 2011a, 2011b). In addition, biogenic VOCs, by altering the air quality, may have an impact on human health and ecosystems functioning through the formation of secondary organic aerosols (SOA) (Finlayson-Pitts and Pitts, 1993, 1986; Leighton, 2012; Wayne et al., 1991).

In terrestrial landscapes, VOCs emitted by living plants, and the associated senescent litter, have been widely studied in the literature (Blom et al., 2011; Dicke and Baldwin, 2010; Gray and Fierer, 2012a; Holopainen and Gershenzon, 2010; Lathière et al., 2005; Llusà et al., 2002; Rinnan et al., 2013). Plant vegetation in situ releases a wide variety of VOC molecules especially isoprene and monoterpenes (Kesselmeier and Staudt, 1999) with isoprene fluxes varying from null (at the detection limit) to 738 $\mu\text{g m}^{-2} \text{h}^{-1}$, measured in a subarctic wet heathland (Faubert et al., 2010; Tiiva et al., 2008) and between

2.0 and 9.7 mg m⁻² h⁻¹ measured in a French Mediterranean oak forest (Kalogridis et al., 2014). VOCs are also differently emitted according to plant species and their phenology throughout the seasons (König et al., 1994)

If VOCs emissions by plants are relatively well documented, much less attention has been paid to VOCs emissions from the ground (soils and the organic litter they receive), although recent and increasing literature has suggested that soils, whether planted or not, may contribute to unexpected terrestrial emissions of biogenic VOCs (D'Alessandro et al., 2014; Insam and Seewald, 2010b; Leff and Fierer, 2008; Peñuelas et al., 2014; Zhao et al., 2016). In soils, besides local climate conditions, land-use managements and pedological parameters, microorganisms are also important driving factors that control the carbon (C) balance between organic C sequestration in soil and C mineralization and emissions to the atmosphere (Gougoulias et al., 2014; Lacoste et al., 2015; Orgill et al., 2017). It has been established, by applying fungistatics or bactericides on soil in laboratory experiments, that microbial communities are directly involved in the production of VOCs emitted by soils (Stahl and Parkin, 1996), and that biogenic VOCs emitted by soils have been shown to correlate with soil microbial biomass (Leff and Fierer, 2008). Firstly, biogenic VOCs released by soil are produced during soil organic matter (SOM) breakdown and degradation by soil microorganisms (Asensio et al., 2008; Ramirez et al., 2009). Emission of VOCs during SOM decomposition is still poorly documented, even while under certain conditions, it can represent up to 88% of the emission of C as CO₂ (Gray and Fierer, 2012b) and thus could constitute a significant loss of soil C which has to be taken into account in the C cycle. Secondly, biogenic soil VOCs are produced as secondary metabolites involved in below ground communication of microbial communities with their biotic environment (Werner et al., 2016; Wheatley, 2002). Different studies have thus shown that soil VOCs are key molecules of the communication between diverse kinds of organisms inhabiting the soil among which bacteria, plant and their roots and fungi (Blom et al., 2011; Hung et al., 2013; Ryu et al., 2003).

All these studies reported in the literature suggest that soil VOCs are of great ecological and agronomic interest, and call for advancing our knowledge specifically on soil of agroecosystems. Indeed, VOCs emissions in agroecosystems are less well characterized than in natural ecosystem (forest, heathland, wetland, etc.), even while it is widely established that agriculture specifically contributes to the emissions of atmospheric trace gases (CH₄, N₂O). In agroecosystems, gases released from soil to the atmosphere are related to plant under-cropping but especially to certain practices of agricultural management that directly impact ground functioning, such as nitrogen chemical fertilization, pesticide plant protection, soil ploughing, annual crop rotations or management of livestock effluent (Osborne et al., 2010). Thus, land uses and soil management in agriculture may closely control the organic matter decomposition by changing both microbial communities (diversity or activity) and organic matter sources (quality and amounts).

The literature reports that soil organic amendments increase the SOM content (Gerzabek et al., 1997) and the soil microbial biomass (Acea and Carballas, 1988; Ritz et al., 1997) compared to mineral fertilization (nitrogen or phosphate fertilizers) that tend to decrease soil microbial diversity and functions (Girvan et al., 2004; Sarathchandra et al., 2001). Because there is a need to develop optimal sustainable farming systems limiting the use of mineral fertilizers, the input of organic fertilizers (livestock manures, biogas by-products or sewage sludges) to crop systems could be an alternative, coping with the world climate change summit COP 21 (Lal, 2016). Their uses as organic fertilizers should be beneficial since they provide nutrients (N, P, K) and improve the soil structure with the addition of organic matter (Nkoa, 2014). In order to enhance the sustainability of soil exploitation through agriculture, the consequences of organic fertilizer inputs on soil have to be identified. In particular, there is a need to assess the possible soil microbial changes (diversity and functions) following perennial organic waste applications onto the soil (conventional manure or methanization by-product inputs). Indeed, such alternative farming practices should not have detrimental environmental consequences through augmented VOCs releases into the atmosphere, which would negate the targeted goal (increasing soil C sequestration).

In the present study, we investigated whether soil organic amendments (i) change the diversity of VOCs emitted by soils, (ii) whether or not they increase the C-VOCs flux emitted by soils, and (iii) whether they affect bacterial diversity. We hypothesized that manure fertilization controls the biogenic VOCs fluxes emitted by soils by affecting the living soil microorganisms. To do so, we took advantage of a new long-term field experiment on livestock effluent management for investigating the effects of perennial soil organic amendments (methanized pig slurry, undigested pig slurry) on the VOCs released by cropped soils. We showed that both manure fertilizations were associated with a bacterial inoculation to the soil but that they significantly differed in their impact on VOCs emissions.

3.3.3 Methods

Field site and organic amendments

The study site pertains to the long-term field experiment dedicated to livestock effluent managements (named EFELE) of the French national institute of agronomic research that has been established in February 2011. This EFELE site is located at Le Rheu in North-Western France in the heart of the silty Basin of Rennes of the Brittany region. The climate is temperate with a mean rainfall of 696 mm year⁻¹ and a mild annual mean temperature of 12.1°C. The soil is a silty-clay loam (sand 15.6%, silt 70.1%, clay 14.3%), slightly acid (pH 6.2), with a very low content of organic matter (1.1%) (Table 3.4). Typical dairy agriculture and pig farming are practiced with main crops of maize (grains and

silage), cereals, rapeseeds and ray-grass. As representative of the Brittany agriculture, the EFELE experimental site (area of 1 ha) is conventionally cropped with an annual winter wheat/silage-maize rotation. It is divided into 36 plots differently amended with organic manures (nine manure treatments in four replicates). In the present study, three field trials, each represented by three randomly replicated plots, were studied : Soil plots amended either with pig slurry (PS) or methanized pig slurry (MPS) and unfertilized soil plots receiving neither organic nor mineral fertilizers (Control, C). Chemical characteristics of the organic manures (PS and MPS) applied onto soil in the Spring of 2015 are displayed in Table 3.4. The organic inputs take place once a year in Spring (March) and correspond to an application of 170 kg of nitrogen per hectare. In 2015, the organic manure inputs were performed on the 16th of March. During our gas samplings that were performed from the beginning of March to the end of May 2015, the experimental site was growing winter wheat.

TABLE 3.4 – Chemical characteristics of soil and organic amendments pig slurry (PS) and methanized pig slurry (MPS) : pH water, organic C (OC), total Nitrogen (N_{tot} , g kg⁻¹), organic nitrogen (N_{org} , g kg⁻¹), Ammonia (NH₃, g kg⁻¹), ratio of ammonia on total nitrogen (percent). Data are mean of 3 replicates provided by the INRA-EFELE observatory. SE of the mean are available for the soil analyses but not for the manure ones.

Field plots	Soil characteristics				Manure characteristics				
	N_{tot} (g kg ⁻¹)	OC (g kg ⁻¹)	C/N	pH _w	N_{tot} (g kg ⁻¹)	OC (g kg ⁻¹)	N_{org} (g kg ⁻¹)	N-NH ₃ (g kg ⁻¹)	N-NH ₃ /N _{tot}
Control (C)	1.19 ± 0.05	11.7 ± 0.4	9.8	6.2 ± 0.3	NA	NA	NA	NA	NA
Pig Slurry (PS)	1.14 ± 0.05	11.1 ± 0.5	9.7	6.2 ± 0.2	6.2	417	2.2	4	65%
Methanized Pig Slurry (MPS)	1.13 ± 0.08	10.9 ± 0.8	9.6	6.0 ± 0.3	6.2	332	1.7	4.5	72%

Micro-climatic conditions

The temperature (T) and the precipitations (P) that prevailed during the field gas monitoring are plotted in a climate diagram including the atmospheric pressure (Fig. 3.3). According to this diagram, the gas samplings were always performed under dry conditions in the Spring of 2015 (11th, 17th, 19th and 23rd March, 21st April), except on the 19th May, but with varying air temperature (from 5.8°C in March up to 14.8°C in April). The first gas sampling on March 11th represented the sampling before the annual organic input (expressed as BI on the figures).

Gas sampling and determination of VOCs concentrations

In January 2015, a stainless-steel baseplate was permanently placed in each selected soil plot allowing gases to be sampled at the same place during the monitoring. Gas monitoring was always done during the daylight between 10 :00 am and 6 :00 p.m. Gases were sampled right before (BI) and 1, 3, 7, 36 and 64 days after the organic inputs performed in March 2015 in each of the nine plots under investigation (54 gas samples).

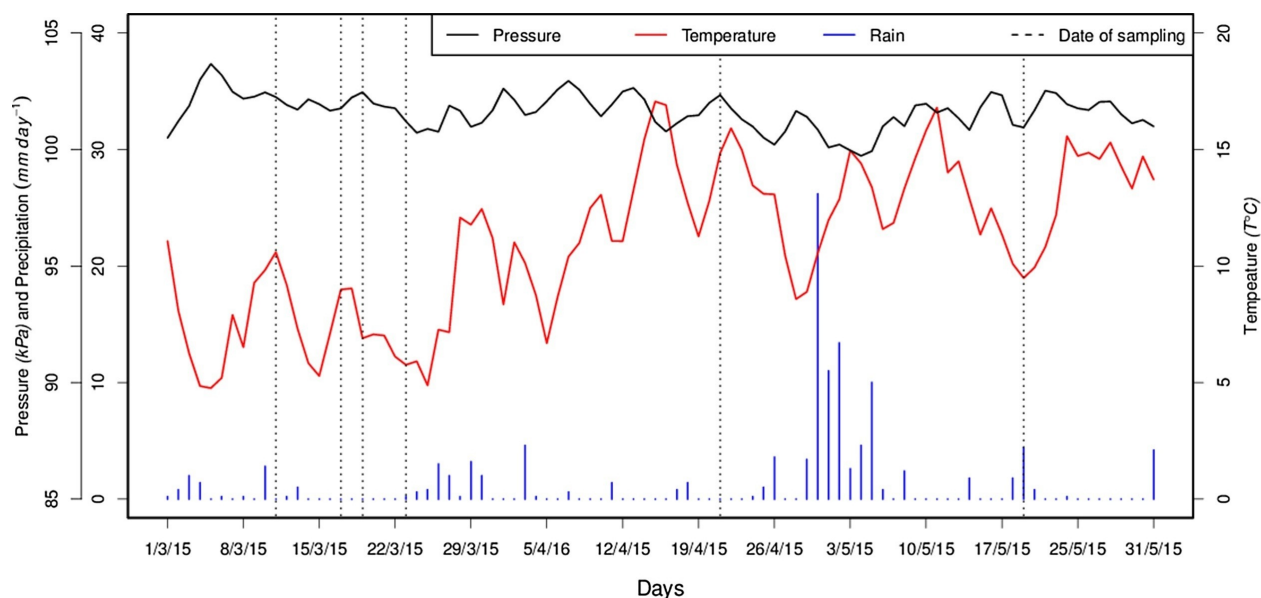


FIGURE 3.3 – Daily Atmospheric pressure, mean temperature and rainfall during the gas sampling period. Each sampling date is figured by a vertical dashed line. In such a climatic diagram, the precipitation scale is strictly equal to twice the temperature's one. The relationship between the temperature (T) and precipitation (P) scales is based on the Gaussen-Bagnouls aridity index, which states that when $P < 2 T$, the period is defined as arid for temperate area.

Gases were sampled by placing a 20 L, stainless-steel, cylindrical top-chamber on the baseplates to isolate the air inside the chamber from the ambient air. The top of the chamber was glazed to allow photosynthesis even during the samplings. The chamber was equipped with a fan running at 150 rpm to homogenize the indoor air during the sampling time. The chamber was first flushed for 10 min with ultra-pure air (Air zero alphagaz 2, Air liquide) at a flow rate of 5.5 L min^{-1} allowing the entire inside air to be refreshed about three times in order to remove all ambient trace gases present in the air before sampling. A six liter vessel, dedicated to VOCs sampling (SilcoCan canister®, Restek, Lisses, France,) was then connected to the chamber and filled at a flow rate equal to 0.210 L min^{-1} while, at the same time, ultra-pure air was also injected at the opposite side of the outlet and at the same flow rate to prevent any variation of pressure inside the chamber. The analysis of the sampled gas was performed in the laboratory within 24 h for preventing gas degradation.

VOCs concentrations were measured by using a Proton Transfer Reaction-Mass Spectrometer (Ionicon PTR-MS Compaq QMS 300) (Lindinger et al., 1998), over a mass range from 21 to 151 atomic mass unit (amu). The technique is based on a “soft ionization” consisting in transferring a proton from the H_3O^+ ion to any molecule (M) having a proton affinity greater than that of the water molecule, which thus increases the mass of M by 1 atomic mass unit (amu). The protonated molecule (MH^+) is then selected in a quadrupole mass filter with a resolution better than 1 amu and detected using an electron multiplier (channeltron). From the H_3O^+ and protonated molecule signals, $[\text{H}_3\text{O}^+]_0$ and $[\text{MH}^+]$ respectively, the concentration of the molecule, [M], can easily be calculated according to the equation (Lindinger et al., 1998) :

$$[\text{MH}^+] = [\text{H}_3\text{O}^+]_0 (1 - e^{-k[\text{M}]t}) \approx [\text{H}_3\text{O}^+]_0 [\text{M}] k t \quad (1)$$

where t is the average time the ions spend in the reaction region of the spectrometer and k is the reaction rate constant for the proton transfer reaction. In our case, the concentration was calculated assuming that the proton transfer reaction occurs at the kinetic rate constant (Langevin rate coefficient) which is typically $k = 2.10^{-9} \text{ cm}^3 \text{ molecules}^{-1} \text{ s}^{-1}$ for most of the VOCs we expected to detect in this study. Also, in order to minimize fragmentation of the molecule during the proton transfer reaction and formation of $(\text{H}_2\text{O})_n\text{-H}_3\text{O}^+$ clusters, the PTR-MS was operated at 135 Townsends. The air enclosed in each canister was scanned nine times and the concentration associated with each mass was then averaged. The ultra-pure air measurement was then subtracted to obtain the net concentration. This PTR-MS having a limit of detection of 300 pptv in optimized settings, only masses with a concentration higher than 500 pptv were taken into account in our analyses. The relative abundance (in percent) of each mass, was calculated from the total concentrations data set of our detected masses.

VOCs identification and C- and N- derived VOCs fluxes calculations

Even if the PTR-MS measures the concentration of molecular mass of compounds with a resolution better than 1 amu, the specific compound identification corresponding to a mass is most of the time plausible (Lindinger et al., 1998) when the composition of the sampled air is unknown, which is our case in the present study. Therefore, the assignment between protonated masses and known molecules was cross-validated according to the literature : a molecule was assigned to a protonated mass when both its detection with PTR-MS has already been demonstrated (Ellis and Mayhew, 2014) under our configuration conditions and it has been identified as emitted by soils (see references in Table 3.5). Only these molecules were taken into account for the C-VOCs emission rate calculations, Fc-voc ($\mu\text{g m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), using the equation :

3.3 Organic amendment practices as possible drivers of biogenic Volatile Organic Compounds emitted by soils in agrosystems

$$F_{voc} = \frac{Q}{dw} * m_{VOCs} * R * \frac{M_C}{V_M} \quad (2)$$

where m_{VOC} is the VOC concentration (ppbv), Q is the flow rate ($m^3 s^{-1}$) of the sampling, A ($0.128 m^2$) is the soil area enclosed by the baseplate, M_C is the molecular weight of carbon in $kg kmol^{-1}$, V_m is the molar gas volume in $m^3 kmol^{-1}$ (23.233 at $1013.25 hPa$ and $283 K$ ($10^\circ C$)) and R is the number of carbon atoms associated with the VOC. When several compounds associated with a given mass were eligible, the compound with the lowest R value was used, as mentioned in Table 3.5. As a consequence, it is likely that our calculations are underestimated due to the conservative strategy we used but it provides a robust minimal assessment of VOCs fluxes emitted by soils.

TABLE 3.5 – VOCs molecule assignation for several masses detected by PTR-MS in this study; References in which the molecule assigned has already been described as emitted by soils are also listed in this table.

Protonated masses	Number of Carbon atom	Assignment	References
31	1	Formaldehyde	Veres et al. (2014) and Asensio et al. (2007)
33	1	Methanol	Aaltonen et al. (2013), Warneke et al. (1999) and Veres et al. (2014)
42	2	Acetonitrile	Veres et al. (2014)
43	2	Acetic acid (fragment 30%)	McNeal and Herbert (2009) and Seewald et al. (2010)
45	2	Acetaldehyde	Aaltonen et al. (2013) and Zhao et al. (2016)
47	1	Ethanol/formic acid	Zhao et al. (2016) and Asensio et al. (2007)
59	3	Acetone/2-propanone/propanal	Aaltonen et al. (2013), Seewald et al., (2010), Veres et al. (2014) and Zhao et al. (2016)
61	2	Acetic acid (fragment 70%)	McNeal and Herbert (2009) and Seewald et al. (2010)
63	2	Dimethyl sulfide (DMS)	Veres et al. (2014) and Zhao et al. (2016)
83	5	Methylfuran/hexanol/hexenol	Isidorov and Jdanova (2002) and Asensio et al. (2007)

In the present study, only acetonitrile, the main N-VOC detected, was used for assessing N losses by the soil to the atmosphere. The N-flux was determined again according to Eq. (2) except that M_C was replaced by M_N , the molecular weight of nitrogen, and R was taken as equal to 1. It has to be mentioned that we assigned mass 42 to acetonitrile because potential interference at this mass is relatively weak as de Gouw et al. (2003) showed with a coupled GC-PTR-MS system.

Soil RNA extraction and 16S rRNA sequencing of soil bacterial communities

In each plot, soil samples were collected at the same time as the gas sampling on four dates (Before the inputs (BI) and 1, 7 and 36 days after the inputs), outside of but close to the stainless steel baseplate, thus avoiding soil perturbation inside the baseplate for further gas measurement. Soil samples were frozen *in situ* in liquid nitrogen and stored at $-80^\circ C$ pending soil RNA extraction.

TABLE 3.6 – Main OTUs activated following the pig slurry and methanized pig slurry inputs. For each OTU, the sequence distribution among the soil samples, the classification, the corresponding best match accession number in NCBI and the isolation source of this similar sequence are presented.

	Control plots				Pig slurry plots				Methanized pig slurry plots				Taxa	Best matches accession numbers in NCBI	Isolation source
	BI	1 d	7 d	36 d	BI	1 d	7 d	36 d	BI	1 d	7 d	36 d			
OTU 3	1	0	12	3	1	3162	3807	89	10	399	69	22	<i>γ-Proteobacteria</i>	DO337540	swine effluent
OTU 4	0	0	0	1	1	39	10	35	19	3483	241	1	<i>γ-Proteobacteria</i>	EU838045	slurry of biogas reactor
OTU 15	59	24	28	35	33	103	1706	103	38	57	25	59	<i>Firmicutes</i>	AB695828	Soil
OTU 17	1	0	1	1	0	943	1654	38	1	45	5	10	<i>γ-Proteobacteria</i>	LT624720	Anaerobic digestion process
OTU 21	0	1	4	3	0	1028	718	21	0	121	19	5	<i>γ-Proteobacteria</i>	LT624040	Anaerobic digestion process
OTU 69	1	1	4	0	0	348	499	101	0	67	37	7	<i>γ-Proteobacteria</i>	KU644293	output sample of plant biogas
OTU 80	0	1	0	0	0	5	0	22	20	532	31	0	<i>Firmicutes</i>	LN849530	anaerobic mesophilic biogas reactor with poultry manure
OTU 97	0	0	0	0	0	1	0	3	7	600	35	0	<i>Firmicutes</i>	LT624011	Anaerobic digestion process
OTU 121	36	20	15	15	8	22	478	40	6	11	25	36	<i>Firmicutes</i>	JN187376	Soil
OTU 133	0	2	0	0	0	0	0	13	2	418	59	0	<i>γ-Proteobacteria</i>	LT624645	Anaerobic digestion process
OTU 151	32	29	15	13	11	43	550	33	14	34	52	42	<i>Firmicutes</i>	LN880077	wheat rhizosphere
OTU 246	0	3	0	0	0	1	0	13	4	347	8	0	<i>Firmicutes</i>	HQ155953	pig ordure based biogas digester
OTU 273	0	0	0	0	0	0	0	2	5	296	20	0	<i>Firmicutes</i>	KP151197	cow slurry fermentation process
OTU 299	0	0	0	0	0	1	0	2	2	321	13	0	<i>γ-Proteobacteria</i>	EU837484	slurry of biogas reactor
OTU 361	0	0	0	0	0	72	135	6	1	97	13	1	<i>γ-Proteobacteria</i>	LT624003	Anaerobic digestion process
OTU 381	0	0	0	0	0	0	1	4	4	196	30	0	<i>γ-Proteobacteria</i>	KC110302	sludge of anaerobic reactor
OTU 521	0	0	1	0	0	4	141	0	0	9	4	2	<i>γ-Proteobacteria</i>	KU644293	output sample of plant biogas
OTU 563	0	0	0	0	0	8	120	1	0	34	22	0	<i>γ-Proteobacteria</i>	LT624253	Anaerobic digestion process
OTU 590	0	0	0	0	0	0	0	6	0	138	9	0	<i>Firmicutes</i>	HQ155272	pig ordure based biogas digester
OTU 658	0	0	0	0	0	0	0	3	2	139	5	0	<i>Firmicutes</i>	AB850358	sludge from methane fermentation of chicken manure
OTU 678	6	3	2	3	3	7	297	0	5	4	8	6	<i>Firmicutes</i>	AB695828	Soil
OTU 761	0	1	0	0	0	0	0	2	0	100	10	0	<i>γ-Proteobacteria</i>	LT624003	Anaerobic digestion process
OTU 904	0	0	0	0	0	0	0	0	1	105	11	0	<i>Firmicutes</i>	GO133959	anaerobic digester of swine waste

3.3 Organic amendment practices as possible drivers of biogenic Volatile Organic Compounds emitted by soils in agrosystems

Total RNA of each soil sample was extracted with a PowerSoil® RNA extraction kit (MO BIO Laboratories, Carlsbad, CA, USA) according to the manufacturer's instructions, involving cell lysis using bead beating in presence of phenol :chloroform :isoamyl alcohol (25 :24 :1). The extracted RNAs were treated to remove genomic DNA using the RQ1 RNase-free DNase (Promega). Bacterial RNA was amplified by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) with the Titan one tube RT-PCR system (Roche) using the universal primers for 16S rRNA 341F (5'-ACACTGACGACATGGTTCTACACCTACGGGNGGCWGCAG-3') and 805R (5'-TACGGTAGCAGAGACTTGGTCTGACTACHVGGGTATCTAATCC-3') (Herlemann et al., 2011; Klindworth et al., 2013) where the underlined sequences are Illumina adapters. Amplifications were carried out in two replicates in a total volume of 25 μ L containing 0.8 mM of dNTPs, 2.5 U of RNase inhibitor (Roche), 0.4 μ M of each primer, 5 μ g of BSA, 0.5 μ L of enzyme mix (Roche) and 1X buffer. The thermal cycling conditions were as follows : a RT step at 51°C for 30 min ; an initial denaturation at 94°C for 2 min ; 10 cycles of 94°C for 30 s, 58°C for 30 s, and 68°C for 1 min ; 15 cycles of 94°C for 30 s, 58°C for 30 s, and 68°C for 1 min with a 5 s increase every cycle ; and a final extension step at 68°C for 7 min. Replicate amplicons were pooled and sent to the Génome Québec Innovation Center for multiplexing and Illumina paired-end (2 x 250 bp) MiSeq sequencing.

Sequences analyses

Raw sequences have been submitted to the Sequence Read Archive (BioProject PR-JNA390064). The FROGS pipeline (Escudie et al., 2015) implemented on the Galaxy platform (Goecks et al., 2010) was used for the sequence processing. Briefly, Cutadapt (Martin, 2011) and Flash (Magoc and Salzberg, 2011) were used for quality filtering and to merge paired-end reads using a quality threshold of 33 per base, a minimum overlap of 20 bp and an amplicon size expected of 462 bp. Reads which could not be assembled were discarded. Denoising and read clustering into operational taxonomic units (OTUs) were performed with SWARM (Mah   et al., 2014), using a distance of aggregation of 3. Chimera were removed with VSEARCH v1.3.0 and only OTUs represented by at least 6 sequences (Bokulich et al., 2012) and present in a minimum of two different samples, and were kept. The OTUs affiliation was performed with BLAST+ (Camacho et al., 2009) against the silva 16S database (version 128) using a percent of coverage and identity of 97%. A total of 692,062 sequences were obtained, corresponding to 10,695 bacterial OTUs.

VOCs spectra, bacterial community and statistical analyses

The following analyses were performed using the R software (<http://www.r-project.org/>, version 3.1.2). The bacterial sequences from the three replicates of each soil sample were pooled and randomly rarefied to a same number of sequences (49,121) using the rare curve

function from the vegan package version 2.2-1 (Oksanen et al., 2015). The same package was used to describe the diversity of the VOCs spectra emitted and to calculate the Shannon and equitability indexes along with Bray-Curtis distances that were visualized using the ade4 package version 1.6-2 (Dray and Dufour, 2007). Normality (Shapiro test) and homoscedasticity (Bartlett's test) of data were tested and one and two ways analysis of variance (ANOVA) were performed followed by Tukey Honestly Significant Difference as post-hoc test to analyze the difference of VOCs emissions between field plots. The rarefaction curves of the VOCs masses sampled were obtained using the asbio package (Aho, 2016) to insure the robustness of the gas sampling.

3.3.4 Results

Diversity of the VOCs spectra emitted by soil

A variety of 40 different masses emitted from the soil to the atmosphere were recorded during the field monitoring; the VOCs richness of a single gas sample (one plot at one date) slightly varied from 36 up to 40 masses. The field gas monitoring was sufficiently robust as 15 out of the 54 gas samplings performed were needed to reach the total VOCs richness (rarefaction curve; Supplementary information S1).

The global analysis (2-ways ANOVA) of the VOCs data set indicated that both seasonal pattern and organic manure inputs significantly changed the soil volatile gas emissions with manure effects being time dependent (date sampling, $p = 0.03$, $F = 2.8$; manure field trials $p < 0.001$, $F = 15.6$; manure X time interaction, $p = 0.001$, $F = 3.9$) as clearly shown by PS amended soil (Fig. 3.4A). At the beginning of March, prior to the annual manure input (BI) and one year after the last organic input, it is interesting to note that irrespective of their fertilizing histories, the soils of the three field trials exhibited similar VOCs spectra (VOCs signature), estimated through Shannon diversity indexes ($SI = 1.8$) (Fig. 3.4A). These volatile emissions before inputs were highly dominated by acetonitrile (m42; varying from 52 to 56% of the VOCs spectrum depending on the field plots) and methanol (m33; varying from 11 to 13% of the VOCs spectrum).

Soil VOCs emissions were first characterized by temporal variations during the spring period (Fig. 3.3). It was shown from the control plots that time had a significant effect on the diversity and equitability of the VOCs spectra ($p = 0.03$, $F = 2.8$; $p = 0.02$, $F = 3.0$, respectively), the VOCs diversity being uppermost in April (36 days) and May (64 days) ($SI = 2.1$). Organic manure inputs onto soils changed their VOCs emissions but these changes differed with the type of manure and were expressed differently with the time period. These changes were detected three days after the organic inputs. In addition to the temporal dynamics, amendments also impacted the composition of the VOCs spectra

emitted, mainly due to PS (Tukhey HSD, PS vs C : $p = 0.004$; PS vs MPS : $p < 0.001$). During the first month following the manure input, the diversity of the VOCs emitted was lower in the plots receiving PS compared to the control plots and those amended with MPS. The lowest VOCs diversity observed in Fig. 3.4A ($SI = 0.6$), corresponded to an increase in the methanol emission and its dominance up to 36 days following the pig slurry amendment. In May (64 days), the VOCs spectra from amended soils (PS and MPS) were much more diverse than those from control soils. ($SI : 2.6$ vs 2.1 ; Tukhey HSD, $p = 0.003$ for PS; $p = 0.01$ for MPS).

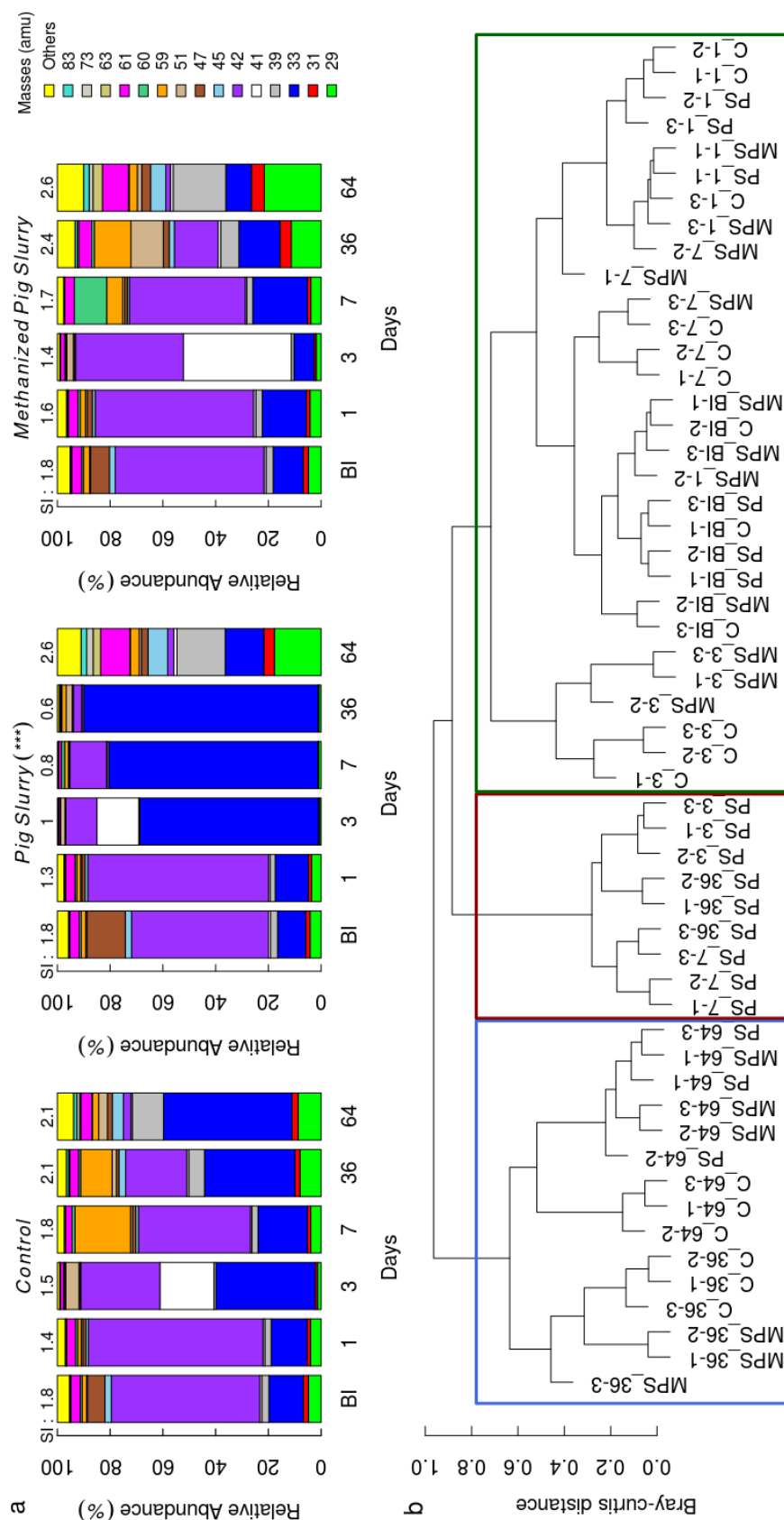


FIGURE 3.4 – Characterization of the VOCs spectra emitted by control (C) and amended soils (PS, MPS). (A) Relative abundance (percent) of the main VOCs (representing at least of 90% of the total VOCs spectrum) emitted by control and amended soils just before the pig slurry and methanized pig slurry inputs (BI) and 1, 3, 7, 36 and 64 days following the inputs. The mean of Shannon index diversity for the three replicates per soil modalities and sampling date is presented as SI above the histograms. *** : highly significant difference between soils (two ways ANOVA on diversity index) (B) : hierarchical clustering (Bray-Curtis distance) of the VOCs spectra emitted by soils. Each sample is defined by the soil modalities (C, PS, MPS), the sampling date (first number) and the replicate (last number), respectively. Three main clusters are defined at the Bray-curtis distance of 0.8 and are highlighted by colored frames.

3.3 Organic amendment practices as possible drivers of biogenic Volatile Organic Compounds emitted by soils in agrosystems

The soils were then distributed into three clusters on the basis of the dissimilarity amongst the VOCs spectra that they had emitted during the period (index of Bray Curtis) (Fig. 3.4B). The first cluster (blue on Fig. 3.4B) gathered together all the spectra emitted in April (36 days) and May (64 days) irrespective of the soil, except those from the PS amended plots at 36 days. Indeed, these samples were closer to those from the PS amended plots 3 and 7 days after the inputs, constituting a ‘high methanol emission’ cluster (in red on Fig. 3.4B). The last cluster (in green on Fig. 3.4B) corresponded to all the other VOCs samplings made during March, before the inputs and one, three and seven days after, excepting plots amended with PS at 3 and 7 days.

Carbon fluxes derived from VOCs emissions

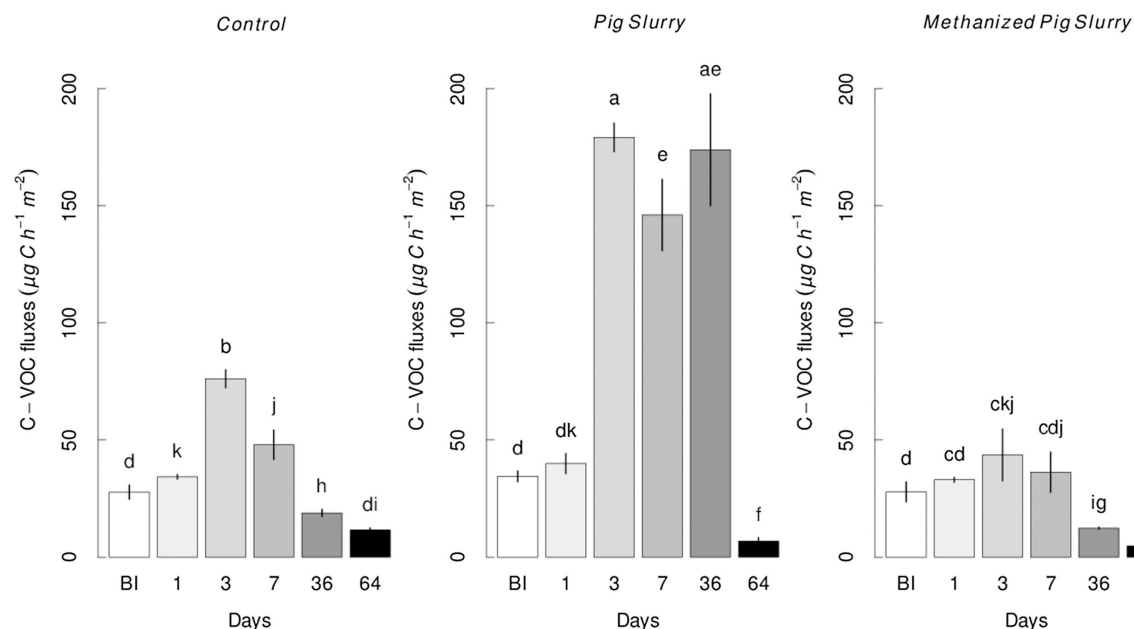


FIGURE 3.5 – Carbon-VOCs fluxes emitted by control and amended soils just before the pig slurry or methanized pig slurry inputs (BI) and 1, 3, 7, 36 and 64 days following the inputs. Letters above histograms indicate significant differences (different letter) or not (same letter) between the date of sampling and the soil modalities (Two-Ways ANOVA, $p < 0.05$).

Based on the molecular assignation of the detected masses (Table 3.5), we estimated the C fluxes associated with these VOCs (Fig. 3.5). At the beginning of March 2015, prior to the organic inputs (BI), the fluxes of C-VOCs were similarly low in all soils, varying from 28 to 35 μg of C-VOCs $\text{h}^{-1} \text{m}^{-2}$ (Fig. 3.5). According to the temporal dynamics of VOCs emissions during the sampling period, C fluxes varied from 12 to 76 μg of C-VOCs $\text{h}^{-1} \text{m}^{-2}$ in the control plots (2 ways ANOVA, $F = 162.1$, $p < 0.001$). While MPS input tended to reduce the C-VOCs fluxes compared to those from the control plots (Fig. 3.5), PS input significantly increased the C-VOCs fluxes (Tukey HSD, $p < 0.001$). Indeed, from 3 to 36 days following the PS input, C-VOCs fluxes were up to two times higher than in

the other treatments reaching a mean flux of $174 \mu\text{g}$ of C-VOCs $\text{h}^{-1} \text{m}^{-2}$. In this case, the increase of C-VOC fluxes was mainly due to an increase of methanol (m33) fluxes (Fig. 3.4A). In May, 64 days after the organic inputs, all C-VOCs fluxes decreased down to the lowest flux observed during the sampling period, being less than $12 \mu\text{g}$ of C-VOCs $\text{h}^{-1} \text{m}^{-2}$ which is even two times lower than in the control plots.

Nitrogen fluxes derived from acetonitrile emissions

The N fluxes derived from acetonitrile (m42) emissions (Fig. 3.6) were not influenced by organic amendment but varied with time (2 ways ANOVA, $F = 9.9$, $p < 0.001$). In fact irrespective of the plot fertilizing histories, N-Acetonitrile fluxes progressively increased from $20 \mu\text{g N h}^{-1} \text{m}^{-2}$ up to $40 \mu\text{g N h}^{-1} \text{m}^{-2}$ during the month of March (BI, 1, 3 days) prior to decreasing from day 7 down to lower values in April ($< 5 \mu\text{g N h}^{-1} \text{m}^{-2}$) arriving at almost null values ($0.12\text{--}0.42 \mu\text{g N h}^{-1} \text{m}^{-2}$) at the end of May (64 days).

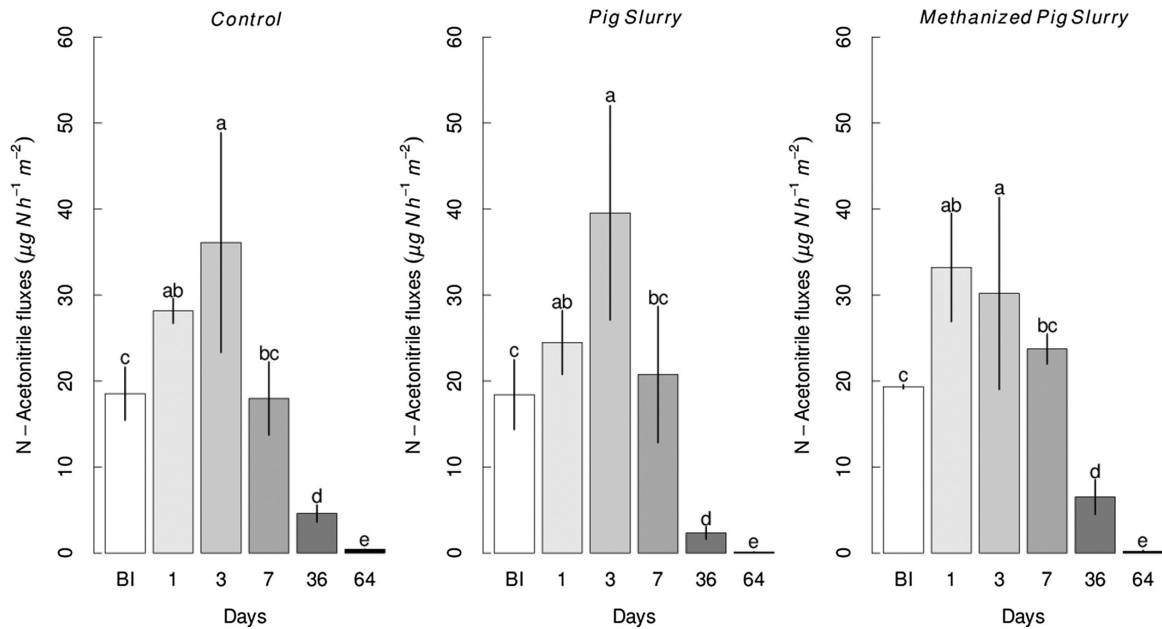


FIGURE 3.6 – N-VOCs fluxes derived from acetonitrile emitted by control and amended soils just before the pig slurry and methanized pig slurry inputs (BI) and 1, 3, 7, 36 and 64 days following the inputs. Letters above histograms indicate significant differences (different letter) or not (same letter) between the date of sampling and the soil modalities (Two-Ways ANOVA, $p < 0.05$).

Living soil bacterial diversity according to organic amendment

One year after the last organic input and right before applying a new one (BI), the composition of bacterial communities at the phylum level and the associated Shannon diversity indexes were highly similar in the three modalities (Fig. 3.7). Bacterial communities were dominated by the *Proteobacteria* (46.1-49.4%), mainly represented by δ -*Proteobacteria*

3.3 Organic amendment practices as possible drivers of biogenic Volatile Organic Compounds emitted by soils in agrosystems

(29.7-32.5%) and α -*Proteobacteria* (10-11%), *Acidobacteria* (14.3-17.4%), *Planctomycetes* (8.5-10.5%) and *Actinobacteria* (7.4-9.4%). During the two month period, from March to April, the composition in the control plots of living bacterial communities slightly varied naturally, e.g., with a decrease in the proportion *Actinobacteria* (from 9.4 to 6.9%) and a concomitant increase in the proportion of *Planctomycetes* (from 8.5 to 12.3%) and α -*Proteobacteria* (from 10 to 14.7%) (Fig. 3.7).

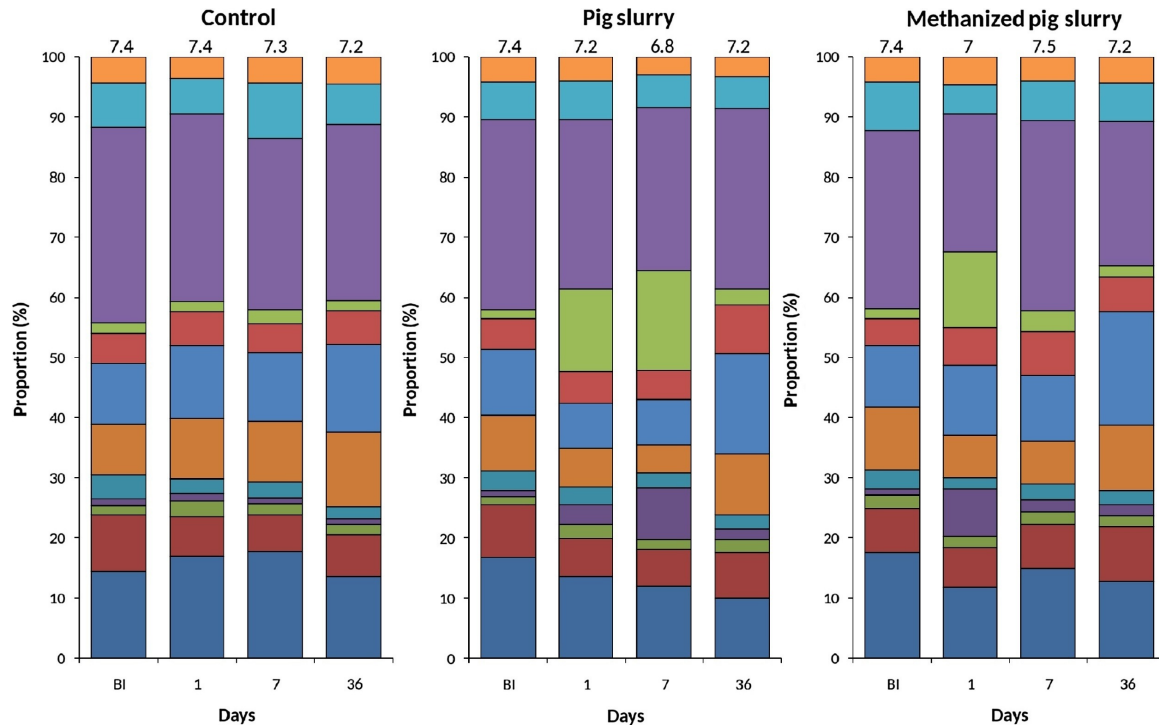


FIGURE 3.7 – Soil bacterial communities during the VOCs sampling period. Proportion (%) of the main phyla of soil living bacteria in control and amended soils just before the pig slurry or methanized pig slurry inputs (BI) and 1, 7 and 36 days following inputs. The sample size per each date of each modality was 49,121 sequences, and the corresponding Shannon diversity index was calculated and presented.

However, living bacterial communities were more affected by soil organic inputs. One day and seven days following the pig slurry application, the proportion of the living γ -*Proteobacteria* increased up to 13.7% and 16.6% of the total number of sequences, respectively while in the meantime in the unamended plots, it represented only 1.6% and 2.2% of the bacterial community, respectively. This increase mainly corresponded to seven OTUs belonging to *Pseudomonas* sp. and highly similar to OTUs previously detected in swine effluent or during anaerobic digestion processes of either plants or slurry (OTUs 3, 17, 21, 69, 361, 563, 521; Table 3.6). All these OTUs, except the OTU 3, were not detected as active in the soil plots before the inputs. Seven days following the PS inputs, an increase in the relative abundance of living *Firmicutes* was also observed to reach 8.8% of the total number of sequences, corresponding to four OTUs belonging to *Bacillus* sp. (OTUs 15, 121, 151 and 678; Table 3.6). These OTUs were highly similar to sequences

obtained from soils including agricultural ones and were also detected to a lower extent in the control plots without any inputs (Table 3.6). These changes in γ -*Proteobacteria* and *Firmicutes* proportion were no longer detected, 36 days following the PS input ; however, at this sampling time, a lower proportion of *Acidobacteria* and a higher proportion of β -*Proteobacteria* were observed compared to the living bacterial community composition in the unamended plots (from 13,6% down to 10,0% and from 5,6% up to 8,2%, respectively). Linked to the methanol emissions observed following the pig slurry inputs, the presence of methanotrophs involved in the production of methanol through methane oxidation was investigated in the corresponding samples. While some of them have been detected, their proportion was not particularly higher at the time the methanol fluxes were observed. In the MPS plots, the input sharply increased the proportion of living γ -*Proteobacteria* and *Firmicutes* (from 1.6% up to 12.6% and from 1.0% up to 8.0% at one day, respectively ; Fig. 3.7). Among the γ -*Proteobacteria*, only two OTUs were common to those activated following the pig slurry inputs (OTUs 3 and 21 ; Table 3.6), while the activated *Firmicutes* were specific to each inputs. In addition to some OTUs belonging to *Pseudomonas* sp. (OTUs 3, 21, 133 and 761) some *Marinospirillum* sp. (OTUs 4, 299 and 381) were also activated one day after the methanized pig slurry inputs while the *Firmicutes* (OTUs 80, 97, 246, 273, 590, 658 and 904) were identified as belonging to the Clostridia class (Table 3.6). All the OTUs activated were highly similar to sequences detected in biogas reactors or during anaerobic digestion process of manures (Table 3.6). Seven and 36 days following the MPS input, these increases in the proportion of the γ -*Proteobacteria* and *Firmicutes* were no longer detected.

3.3.5 discussion

VOCs emission characteristics

Results from the present study showed that in situ soil VOCs emissions were composed of very few abundant compounds associated with several less representative ones, which is a composition pattern commonly reported in the literature irrespective of the emission sources : from forest floors (Asensio et al., 2007 ; Mancuso et al., 2015), microbial cultures (Bunge et al., 2008) or plant litter (Ramirez et al., 2009). Overall studies indicate that this pattern is a general characteristic of biogenic VOCs emissions. From this 3-months field study during springtime, a total of 40 volatile compounds emitted from the surface of the cropped soils were recorded. This is much less than the high diversity of compounds (>100 VOCs) detected from two forest soils (*Pinus taeda* and *Acer rubrum*) incubated in the laboratory for 72-days (Ramirez et al., 2009) but on the same order as those (50 VOCs) emitted by an agricultural soil under controlled laboratory conditions (Zhao et al., 2016). The rarefaction curve (Supplementary data) showed that the richness, up to 40 masses, was fully reached with 15 in situ gas samplings in our agricultural context.

Some dominant compounds we detected (i.e., formaldehyde (m31), methanol (m33), acetonitrile (m42), acetaldehyde (m45), ethanol (m47), acetone (m59) and acetic acid (m61)) confirmed previous records from soil incubations (Gray et al., 2010; Mancuso et al., 2015; Seewald et al., 2010) by using the PTR-MS technique as performed in the present study. To the best of our knowledge, it is the first recording of in situ acetonitrile (m42) efflux from cropped soil, although it has been recently detected during laboratory soil incubations (Veres et al., 2014).

Seasonal variations of VOCs spectral signature

Seasonal patterns of biogenic VOCs emissions have been well established by global long-term studies of terrestrial ground, and have been mostly attributed to the vegetation phenology (i.e., flowering period, litter fall, etc.) of the studied ecosystem (Hakola et al., 2001). In the present short-term study, while the plots were cropped with winter wheat (*Triticum aestivum*), the emission of terpenes such as isoprene (m69), one of the most abundant VOCs produced by plants (Kesselmeier and Staudt, 1999), was not detected at high levels in our gas samples. Moreover, it has been shown that wheat mainly produces *cis*-3-hexenylacetate and 3-Hexen-1-ol (Buttery et al., 1985; König et al., 1994) whose masses were not detected using the PTR-MS technique. We could thus suggest that the contribution of wheat to soil VOCs emissions should be negligible at this time of the year (Spring 2015).

In the control plots, without any organic fertilization, we observed time variations of the VOCs spectral signatures (Shannon index diversity ranging from 1.4 to 2.1) during the 3-month Spring period, which are probably related to both temperature changes (mean temperature increase) and rainfall variations. VOCs emitted by soils partly rely on physico-chemical processes such as VOCs adsorption and desorption onto the soil matrix. Several studies reported that VOCs could be adsorbed on soil minerals (Breus et al., 2014; Morozov et al., 2014; Morrissey and Grismer, 1999; Petersen et al., 1995; Ruiz et al., 1998) and desorbed during air temperature increases (Schade and Custer, 2004; ten Hulscher and Cornelissen, 1996). High soil moisture and warm temperature have also been shown to increase biogenic VOCs concentrations in the air, although the particular VOCs varied. For example, in grazed savannah grassland, soil moisture had the most significant impact on atmospheric concentrations of 2-methyl-3-butene-2-ol (MBO), monoterpene and sesquiterpene (SQT), whereas air temperature had the greatest influence on isoprene levels (Jaars et al., 2016). As observed in Fig. 3.3, it is possible to divide the climatic conditions of our gas measurements into two groups : the first four measurements (before Input, 1, 3 and 7 days after input) were carried out under rather dry conditions (very low rainfall) and relatively low temperatures (typically between 5 and 10°C); the latter two samplings (36 and 64 days) were performed either during or

just after a rainy episode where the temperature of the air was slightly warmer, between 10 and 15°C. Referring to Fig. 3.4, the variation of these two climatic parameters could explain the greater diversity of VOCs observed on the control plots at 36 and 64 days. This hypothesis is supported by the conclusions of Veres et al. (2014), who found that an equatorial rainforest soil emitted a variety of VOCs that strongly and individually varied as a function of temperature and soil moisture content.

It has also been shown that soil VOCs emissions are related to the SOM degradation process by microorganisms (Asensio et al., 2008 ; Ramirez et al., 2009) and thus depend on soil microbial biomass (Leff and Fierer, 2008). The global increase of soil biological activities in the springtime in our temperate region is thus a second possible explanation of such monthly changes observed in the control plots. However, we could not demonstrate that soil living bacterial diversity drives VOCs diversity emitted by soils since, while VOCs diversity varied with time, the diversity of living bacteria was quite unchanged in the control plots although subtle natural variations among phyla of the bacterial communities could be observed. It is possible that VOCs diversity did not rely on bacterial phyla diversity or that the phylum level was not sufficiently informative. Moreover, we cannot exclude that several environmental filters (dilution, sorption, degradation, etc.) prevented a direct link to be established between the soil living bacteria and the released VOCs that was derived from their metabolisms.

Effects of organic amendment practices on VOCs emissions

The effects of organic amendments on soil VOCs emissions can be described through short-term emissions following a single annual input (short-term response) and differentiated VOCs emissions related to the type of fertilization systems (soil fertilization history). In the present study, we did not observe any fertilization system impact on either VOCs emissions (diversity and fluxes) or soil living bacterial communities after four years of differentiated management (no difference amongst field plots prior the 5th manure input). These results suggest that there was no impact on VOCs emissions because the soil bacterial communities were not affected and/or the organic status of the soil was not yet differentiated. Similar chemical characteristics relative to the organic carbon content (from 10.9 to 11.7 g kg⁻¹) and the soil pH (from 6.0 to 6.2) of the three field trials (C, PS and MPS) confirmed their undifferentiation after 4 years of annual manure applications. Regarding induced microbial changes, the literature reports contrasting results, some studies showing rapid changes in the microbial properties after organic residue applications while others reporting that it could take at least 10 years of organic amendment to change the SOM content in cold or temperate soils (Gerzabek et al., 1997 ; Giacometti et al., 2013 ; Liu et al., 2013). Soil microorganisms are known to be early indicators of changes in soil properties induced by organic amendment practices. Odlare et al. (2008) and Tian et al.

(2015) observed changes in microbial activity, after 4 and 3 years respectively of field trials following heavy application of organic residues. The discrepancy with our study can be due to the lower annual input of manure or to the fact that our bacterial diversity analysis was based on RNA and not DNA as usually performed.

Effects of manure inputs on living bacteria and C-VOCs emissions

While no effect of the soil fertilization history was observed on VOCs emissions and bacterial phyla diversity, a short term impact of the manure inputs was detected. Firstly, a soil bacterial inoculation was independently observed following either PS or MPS inputs, and each one was specific and relevant to the nature of the organic input (e.g, *Pseudomonas* sp. or *Marinospirillum* sp. similar to sequences obtained from slurries or from biogas by-products, respectively). These soil bacterial inoculations were transient as they did not last longer than one day for the MPS input and 7 days for the PS one. This result probably explains why the bacterial communities were unchanged after cumulative 4 years of soil fertilization management compared to the unamended control. Pig slurry input greater impacted the composition of the living bacterial communities as it also stimulated some native soil bacteria belonging to the *Bacillus* sp. Such a stimulation effect was not observed following the methanized pig slurry inputs. These observations confirm a previous findings of Liu et al. (2007) that different types of organic manure amendments led to different soil microbial modifications.

The application of pig slurry drastically decreased the soil VOCs diversity up to one month following the inputs, and, in the meantime, the C-VOCs fluxes doubled due to high emission levels of methanol. Methanol emissions were also observed at 3, 36 and 64 days in the control plots that did not receive any manure, but it seems that the PS inputs intensified them. In the days following the PS input, it is unlikely that this C-methanol emission could be explained by an abiotic desorption process as the temperature was low in March when the pig slurry was applied. Also, it could not be suggested that methanol peaks were attributable to emissions from the slurry itself as there was no methanol release the day after its application. It has previously been shown that microbial degradation of plant pectin was the main source of methanol from soil (Ramirez et al., 2009; Schink and Zeikus, 1980). We can thus surmise that the PS manure contained such a compound whose breakdown led to an increase in the emission of methanol from the soil to the atmosphere. This emission of methanol from pectin biodegradation would not happen in the MPS amended plots since the methanization process allowed anaerobic digestion of the organic matter content to produce CH₄, leading to an organic fertilizer that was depleted in organic carbon content by up to 20% compared with the PS manure (Table 3.4). The production of methanol through pectin degradation could not be attributed to specific bacterial OTUs since no direct

link was observed between methanol fluxes at 3 and 36 days following the PS inputs and the OTUs activated. Methanotrophy is another microbial production pathway of methanol that could explain methanol emissions from the soil (Hanson and Hanson, 1996). However, while methanotrophic bacteria have been well studied and identified, only few of them were detected in our samples and their activity was not linked to the methanol emissions.

Unlike the pig slurry, the application of methanized pig slurry onto the soil was not associated with methanol peaks but led to the lowest C-VOCs fluxes emitted into the air, even less (half-reduced) than the control unamended plots. This is an important observation that has never been reported, to the best of the authors' knowledge. Indeed, such differential impacts of PS and MPS inputs might be due to the anaerobic digestion that took place during the methanization process. It could indeed have increased stability and induced changes in the chemical stoichiometry and microbial diversity of the pig slurry by C losses and selection of anaerobic microorganisms, respectively (Marcato et al., 2009; Nkoa, 2014). Methanized pig slurry was characterized by higher mineral volatile nitrogen concentration (N-NH_3 ; Clay et al., 1990; Fenn and Kissel, 1973) compared with the pig slurry manure (Table 3.4). In the present study, the soil was amended with the same amount of nitrogen per hectare, but, because MPS contained more volatile nitrogen (N-NH_3) than PS, less nitrogen would be available in the soil which possibly limited the SOM degradation in the MPS amended plots. Moreover, SOM content should have been lower in the plots amended with MPS due to less organic carbon content in this product. As a consequence, we suggest that the MPS amendment reduced the VOCs production by soil microorganisms, including methanol, by lowering MPS degradation due either to N limitation or less SOM compared to PS amendment.

Soil VOCs emissions were found to be the most diverse in the amended soils (whether with PS or MPS) in May (Shannon index diversity of 2.6). This could be explained by the co-occurrence of the following factors : i) a high number of different organic compounds to be degraded ii) a higher availability of soil mineral nitrogen and iii) daily precipitations, all leading to promoting microbial SOM degradation. There appears to be other subtle and transient effects of organic amendments that have to be taken into account in the global balance of their environmental effects. Our observations therefore justified the interest in looking at the effect of a single organic input (short time response) on the diversity of VOCs emitted by soil and its associated bacterial communities. Moreover, following our results, with the aim of reducing GHG emissions and loss of C through VOCs emissions, soil organic amendments with methanized pig slurry should be recommended over pig slurry. However, this conclusion has to be balanced because the impact of the type of organic amendment on agricultural yield is not considered here.

N-acetonitrile emissions by soil

The atmospheric budget of acetonitrile is poorly understood and there is still much speculation about additional sources, other than biomass burning which has been identified as its dominant source. For instance, Sanhueza et al. (2004) shown that the ocean may act as a source of acetonitrile in warm regions and as a sink in cold regions. Our study seems to show that it cannot be excluded that the soil also acts as a reservoir for acetonitrile. Indeed, our results showed that cropped soils emitted acetonitrile into the atmosphere and that acetonitrile emissions did not depend on the organic amendment but significantly varied during the spring (from March to May 2015, Fig. 3.6). Similarly to other VOCs, soil acetonitrile emissions can be caused by biotic net production or by abiotic release from below-ground. Both of these could be regulated by consumption by soil microorganisms (Nawaz et al., 1989). However, according to our results, emissions assigned to acetonitrile decreased in April while the air temperature was the highest observed during our sampling days and should thus be favorable for soil desorption and soil microbial activity. Even if acetonitrile is considered as the best tracer of biomass combustion in the troposphere (Holzinger et al., 1999), we cannot exclude a significant biological source. Two wood decay fungal species of *Trichoderma* have been shown to produce acetonitrile in culture media (Wheatley et al., 1997). Moreover, it has been demonstrated in petri dish experiments, that several species of bacteria were also able to produce acetonitrile (Zhu et al., 2010). At this stage, a more detailed study focusing on acetonitrile, needs to be investigated in order to understand the potential link between acetonitrile production by microorganisms in soil and its release into the atmosphere.

3.3.6 Conclusion

While no effect of the fertilization history was observed on bacterial phyla or soil VOCs emissions, a short-term and differentiated impact of both PS and MPS inputs was detected. Both manures were associated with bacterial inoculation of γ -*Proteobacteria* (*Pseudomonas* sp. and/or *Marinospirillum* sp.) to soil in addition to which PS inputs stimulated native soil *Bacillus* sp. but these changes were only detected up to 7 days following the inputs. However, they significantly differed in their impact on VOCs emissions, the input of PS leading to an increase in the methanol emissions associated with higher C-VOCs fluxes from the soil into the atmosphere. Moreover, the methanized pig slurry inputs reduced VOCs emissions from soils compared with undigested pig slurry which is of great interest in the context of mitigating GHGs in agriculture. Interestingly, we also detected significant amounts of acetonitrile, mainly known to be a biomass combustion marker, emitted from soil irrespective of the organic fertilization practice. This preliminary interpretation shows that the soil VOCs fluxes are not negligible compared to plant VOCs fluxes but supplementary research is necessary to confront this hypothesis.

3.3.7 Acknowledgements

This research was supported by the CNRS-INSU "Ecosphère Continentale et Côtière" program and the CNRS-MI "Génomique Environnementale" program. Special thanks to Alizée Le moigne for conducting parts of this work and to Brian Mitchell for editing the English language of the manuscript. The authors also wish to thank the European Union for financial support for the PTR-MS instrument.

3.3.8 Supplementary Information

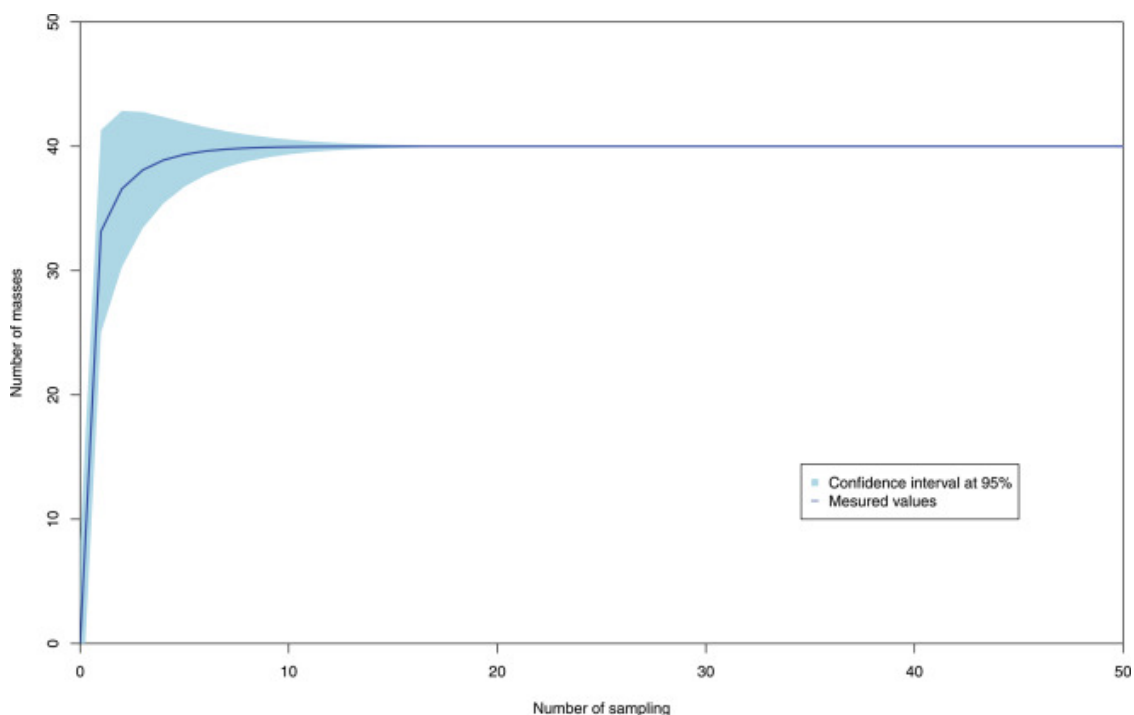


FIGURE 3.8 – Fig. S1. Rarefaction curve of gas sampling, indicating that the field gas monitoring was enough robust as 15 out of the 54 gas samplings performed were needed to reach the total VOCs richness.

Chapitre 4

Etude mécanistique des émissions de COVs par les sols

4.1 Contexte scientifique

Les résultats de la section 3.3 suggèrent qu'il existe des relations entre une modification du spectre de COVs émis par les sols et les communautés microbiennes de ce même sol. Dans ce chapitre, nous allons, ainsi, étudier les relations croisées entre les propriétés édaphiques, les microorganismes et les spectres de COVs émis.

De nombreuses études portant sur la production des COVs par les microorganismes ont été réalisées en milieux gélosés (Müller et al., 2013) ou liquides (Bunge et al., 2008). Ce type d'étude permet d'obtenir des informations précises sur la spécificité des COVs émis par un microorganisme donné. Par exemple, Müller et al. (2013) ont montré qu'il était possible de prédire la fonction écologique d'un champignon en fonction de la signature spectrale des COVs qu'il émet. En parallèle, Bunge et al. (2008) ont montré que les COVs émis évoluaient dans le temps durant l'établissement d'une communauté dans un nouveau milieu de croissance, suggérant qu'ils pourraient servir de proxy d'une activité métabolique spécifique. Malgré cela, les liens ainsi décrits ne sont pas généralisables à des environnements plus complexes, tels que les sols. En effet, la matière organique et les propriétés édaphiques jouent aussi un rôle dans la régulation de la production des COVs par les microorganismes (Stotzky and Schenck, 1976). Par exemple, pour un même champignon, le spectre de COVs qu'il émet varie en fonction de la teneur en nutriments de son substrat de croissance (Wheatley et al., 1997). Le sens de cette variation est, de plus, COVs-spécifique. Par exemple, pour le champignon *Trichoderma viride*, l'augmentation de la teneur en nutriments du milieu entraîne une diminution de la production d'éthanol et une augmentation d'hexane. Outre les propriétés du milieu, le spectre de COVs émis par les microorganismes est également dépendant de leur abondance (Blom et al., 2011). L'ensemble de ces études permet, donc, de conclure que l'émission de COVs par les sols est dépendante des propriétés biotiques et abiotiques. Néanmoins, aucune donnée ne permet, actuellement, de hiérarchiser les importances relatives des propriétés biotiques et abiotiques des sols dans les émissions de COVs.

Cette absence de connaissance constitue une limite dans la compréhension des mécanismes d'émission de COVs par les sols et représente donc un challenge majeur de la recherche. Par exemple, cette connaissance permettrait de développer la volatilomique qui pourrait être un moyen d'étudier l'activité microbienne des sols de manière non destructive via l'analyse des COVs émis. Les objectifs de ce chapitre sont donc :

- i D'estimer si les émissions de COVs par les sols dépendent plus de la diversité microbienne d'un sol ou de ses propriétés physico-chimiques.
- ii De déterminer l'impact engendré par l'apport de différents types de molécules organiques à un sol sur le spectre de COVs qu'il émet.

Les interactions entre les propriétés d'un sol et ses communautés bactériennes régulent le spectre de composés organiques volatils émis

Résumé

Les COVs sont des gaz traces qui participent aux réactions physico-chimiques dans la troposphère et de fait sont impliqués dans la qualité de l'air. Dans les paysages, les sources principales de COVs sont d'origines biologiques ou anthropiques. Toutefois, de récentes études ont suggéré que les émissions par les sols étaient probablement sous estimées et pourraient agir sur la qualité de l'air et avoir de forts impacts sur le climat. Néanmoins, les mécanismes d'émission des COVs par les sols sont encore méconnus. Dans les sols, les COVs sont produits par les microorganismes au cours de la biodégradation de la matière organique ou durant les processus de communication microbienne. Ces deux processus sont régulés par des déterminants biotiques et abiotiques, mais dans l'état actuel des connaissances, il est impossible de hiérarchiser les importances relatives de ces déterminants dans les émissions de COVs par les sols. La question de savoir si les COVs sont principalement dépendants des microorganismes ou des propriétés chimiques du sol est alors posée. Dans cette étude, nous avons testé l'hypothèse que le spectre de COVs émis par un sol est principalement dépendant des microorganismes qui le produisent. Nous avons donc réalisé une expérimentation de transplantation de communautés microbiennes du sol. Deux communautés microbiennes naturelles ont été extraites à partir d'un sol cultivé et d'un sol de prairie humide et inoculées de façon indépendante dans leur sol d'origine ainsi que dans deux autres sols distincts. Les émissions de COVs par chacun des trois sols inoculés par l'une et l'autre des deux communautés ont été mesurées pendant 1 semaine. Les résultats montrent que les spectres de COVs sont expliqués à 84% par l'origine de l'inoculum et à 9% par le type de sol. De plus, tous les sols inoculés avec les communautés microbiennes extraites du sol de prairie humide émettaient un flux de COVs jusqu'à deux fois plus important que dans le cas de l'inoculum du sol cultivé. Ce résultat suggère que les sols des prairies humides pourraient être une source non négligeable de COVs dans un contexte de changement climatique, et notamment dans le cas de leur assèchement. Bien que la présence de communautés bactériennes spécifiques explique plus les émissions de COVs que les propriétés chimiques des sols, c'est l'interaction entre ces deux facteurs qui est le plus pertinent pour expliquer la variance des spectres de COVs émis par le sol (88% de la variance expliquée). Bien que préliminaires, ces résultats suggèrent que les spectres de COVs seraient un meilleur proxy de l'activité microbienne des sols que de l'identité phylogénique des microorganismes actifs.

4.2 The interaction between soil properties and bacterial communities drives the Volatile Organic Compounds spectrum emitted by soil

Etat : In prep.

Authors : Kevin POTARD^{a,b}, Françoise BINET^a, Nathalie LE BRIS^a, Jean-Luc LE GARREC^b, Cécile MONARD^a

^a Université de Rennes 1, CNRS UMR 6553 ECOBIO, Campus de Beaulieu, 265 Av. Général Leclerc, 35042 Rennes Cedex, France

^b Université de Rennes 1, CNRS UMR 6251, Institut de Physique de Rennes, Campus de Beaulieu, 265 Av. Général Leclerc, 35042 Rennes Cedex, France

4.2.1 Abstract

VOCs are trace gases that contribute to physico-chemical reactions in the troposphere and are therefore involved in air quality. In landscapes, the main sources of VOCs are biological or anthropogenic. However, recent studies have suggested that soil emissions are likely to be underestimated and may affect near-surface air quality and have a strong impact on climate. Nevertheless, the mechanisms of emissions of VOCs by soils are still unknown. In soils, VOCs are produced by microorganisms during the biodegradation of organic matter or during microbial communication processes. Both processes are regulated by biotic and abiotic determinants, but in the current state of knowledge, it is impossible to quantify the relative contribution of each. The question of whether VOCs are mainly dependent on microorganisms or on the chemical properties of the soil is then raised. In this study, we tested the hypothesis that the VOC spectrum emitted by soil is mainly dependent on the microorganisms that produce it. We therefore performed a microbial community transplantation experiment. Two natural microbial communities were extracted from a cropped or a wet meadow soil and independently inoculated into their original soil and two other distinct soils. . The VOCs emissions of each of the six inoculated soils were measured for one week. The results showed that the VOC spectra were explained at 84% by the source of the inoculum and at 9% by the inoculated soil. Moreover, the VOCs fluxes from the three soils inoculated with the microbial community from the wet meadow soil emitted up to twice as much VOCs than the soils with the inoculum from the cropped soil. This result suggests that wet meadows could be a significant source of VOCs in a context of climate change and in particular if they get dry. Although the presence of specific bacterial communities explained VOC emissions more than the chemical properties of soils, the interaction between these two factors was the most relevant for explaining the

4.2 The interaction between soil properties and bacterial communities drives the Volatile Organic Compounds spectrum emitted by soil

variance of VOC spectra observed (88% of the variance explained). Although preliminary, this result suggests that VOC spectra would be a better proxy for soil microbial activity than the phylogenetic identity of active microorganisms.

Keywords : VOCs spectra, soil chemical properties, proxy of microbial activities, community swapping

4.2.2 Introduction

VOCs are emitted by several sources (anthropic activities, vegetation, ocean, soil. . .), and among them soil emissions are frequently overlooked. However, it has been shown that the VOCs fluxes emitted by soil from a temperate coniferous forest can represent up to 136% of the canopy emissions from the same forest (Faiola et al., 2014). Thus, VOCs fluxes from soil are not taken into account in climate change models while they can contribute significantly to the increase in atmospheric pollutant contents such as SOA (Faiola et al., 2014).

In soil, VOCs are emitted by microorganisms through their biodegradation of organic matter (Seewald et al., 2010) and as signaling molecules for chemical communication (Schulz and Dickschat, 2007). A recent study suggests that soils are the main reservoirs of VOCs in agrosystems compared to the crop vegetation (Bachy et al., 2016). Despite this work, the regulating factors (biological and physico-chemical) of the VOCs emissions by soil are poorly known. There are, indeed, still many shadow areas preventing to understand and predict the VOCs emissions by soils. A current conundrum is to determine if the soil VOCs emission depend mainly on microbial communities or abiotic factors.

On one hand, VOCs spectra emitted by microorganisms depend on the microbial producer itself, whether it is fungi or bacteria for example (Stahl and Parkin, 1996). Thus, by measuring modifications of the VOCs spectrum produced during the composting of organic matter, it is possible to follow the changes in the microbial communities (Smet et al., 1999). Moreover, in petri dishes, it has been shown that fungi differently emit VOCs depending on their ecological function (symbiotic, pathogenic or saprophytic) (Müller et al., 2013) and that the VOCs spectrum emitted by bacteria relied on their abundance in the medium (Blom et al., 2011).

On the another hand, using culture-based experiments, it has been shown that the VOCs spectrum emitted by fungi or bacteria changes according to the substrate available and growth conditions (Wheatley et al., 1997; Blom et al., 2011). This result is confirmed by a laboratory study on soil samples, where VOCs spectra depend on the soil chemical properties that regulate microbial activities (Mancuso et al., 2015). Another study has shown that a mineral nitrogen input performed during the process of litter decomposition could reduce the net VOCs emission (Gray and Fierer, 2012).

Based on these knowledges, we asked whether VOCs spectra emitted by soils rely mainly on bacterial communities or on soil chemical properties. If soil microbial communities predominate (phylogenetic diversity) , different soils holding a same microbial community would emit a similar VOCs signature, VOC signature being specific of the microbial community. At the opposite, if abiotic soil feature predominates, different soils would exhibit different VOCs signature, whatever their microbial component. To test such hypotheses

we carried out a soil microbial community swapping experiment. It consisted in inoculating two natural microbial communities in their original habitat and in two other distinct soils and analyzing the VOCs signature emitted by each inoculated soil.

4.2.3 Materials and methods

Soil and microbial inocula

Three soils harboring distinct physico-chemical properties (see Web Figure 1) were used and were either sampled from the EFELE site as representative of highly managed cropped soil, or from the ZAAr site as representative of low managed soil and corresponding to a drained and a wet meadow soils (More details of the site description are given in Potard et al, 2018). A first soil sampling was performed three months before the experiment and two kilograms of each soil were gamma sterilized at a dose of gamma rays of 70.0 kGy (Ionisos company, Dagneux, France) and the sterilized soils were stored several weeks before used to avoid the VOCs production from residual enzymatic activities.

A second soil sampling was performed 24h before the start of the experiment in order to extract the microbial communities from the cropped and wet meadow soils using the protocol of Kästner et al. (1998). An additional filtration step at 20 μm (Whatman number 4) was performed as proposed in (Jones et al., 1998) to separate the mineral phase and the microbial phase. An aliquot of 10 mL of each inoculum was filtered through 0.2 μm on whatman filters that were kept at -20°C for further DNA extraction and characterization of the bacterial communities.

Experimental design and soil microcosm set-up

For each of the three sterilized soils, four aliquots of ten grams of dry soil (4 replicates) were inoculated with, a same quantity of microbial inoculum deriving from either the cropped soil (ICS) or the wet meadow soil (IWMS) corresponding to 3.1 mg carbon of microbial biomass per grams of dry soil. This quantity corresponded to the mean microbial carbon biomass measured in cropped and wet meadow soils by the fumigation-extraction method (Vance et al., 1987). In total, 48 soil microcosms were set up by placing soils in 150 ml glass microcosms designed to allow gas exchange but to prevent the deposit of airborne microorganisms. To avoid any microbial contamination, all the manipulations were carried out under a laminar flow hood. The soil moisture was adjusted to $80 \pm 2\%$ of the WHC (Water Holding Capacity) of each soil and all soil microcosms were then incubated at 20°C for two weeks. in the dark. No measurement was done during the first week (till day 7) as its was designed as a period of acclimation for the inoculated bacteria. The second week was dedicated to the monitoring of VOCs emitted and the composition of bacterial communities. The soil incubations were performed in duplicates for destructive analyses carried out after one and two weeks of incubation. A third set of sterilized but

not inoculated soil incubation was performed in the same conditions to control the VOCs emission of sterilized soils.

VOCs measurements

To measure VOCs emissions, the microcosms were hermetically closed with a glass lid and totally flushed with ultra-pure air (Air zero, Alphagaz 2, Air Liquide). VOCs were then accumulated for 15 minutes before the gas sampling. Gas sampling and analysis were performed by using a proton transfer reaction - mass spectrometer (PTR-MS) and following the settings described in Potard et al. (2017). The inlet flow of ultra-pure air and the outlet flow of PTR-MS were equal and of 0.05 L min^{-1} to prevent any variation of pressure inside the microcosms. The VOCs sampling by the PTR-MS was performed at one centimeter above the incubated soil and ultra-pure air was injected at the opposite side in the top of the microcosms. Four analytical measurements were performed during 1 minute and 15 seconds, corresponding to a total inlet of 0.062 L of ultra-pure air corresponding to 42% of the entire microcosm volume. Preliminary tests showed that, under our experimental conditions, VOCs concentrations were in the microcosm headspace were not modified by a dilution factor during their analysis by the PTR-MS. The VOCs fluxes (F_{vocs}) in $\mu\text{g s}^{-1} \text{ g}^{-1}$ of dry soil were calculated according to the following equation :

$$F_{vocs} = \frac{Q}{dw} * C_{VOCs} * \frac{M_{vocs}}{VM}$$

Where C_{VOCs} is the VOCs concentration (ppbV), Q is the flow rate ($0.00005 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) of the sampling, dw is the dry weight of soil (g), M_{vocs} is the molecular weight of the VOC in kg kmol^{-1} and V_m is the molar gas volume in $\text{m}^3 \text{ kmol}^{-1}$ ($=24.055$ at 1013.25 hPa and 20°C).

VOCs emissions from sterilized soils were below the detection threshold of the PTR-MS, demonstrating that the pristine microbial component was well inactivated and that the delay of storage prior using the sterilized soil was long enough.

Soil chemical properties and bacterial community analyses

At the end of the incubation, five of the ten grams of each incubated soil were sampled to analyze the total organic carbon, nitrogen and sulfur contents using a CHS analyzer (model pyrocube elementar, France SARL). The water pH was measured according to the norm NF ISO 10390.

Total DNA of each soil sample was extracted with a PowerSoil® RNA extraction kit (MO BIO Laboratories, Carlsbad, CA, USA) according to the manufacturer's instructions, involving cell lysis using bead beating in presence of phenol :chloroform : isoamyl alcohol (25 :24 :1). DNA quality was checked on agarose gel and the bacterial 16S rRNA gene was amplified by polymerase chain reaction (PCR) using the primers 341F and 805R (Herle-

mann et al., 2011; Klindworth et al., 2013) containing the Illumina adapters described in Potard et al. (2017). containing the Illumina adapters described in Potard et al. (2017). Amplifications were carried out in duplicates in a total volume of 25 μ L containing 12.5 μ L of 2X KAPA HiFi HotStart ReadyMix, 5 μ L for each primers (1 μ M) and 2.5 μ L of DNA. The thermal cycling conditions were as follows : an initial denaturation step at 95°C for 3 min ; 25 cycles of 95°C for 30 s, 55°C for 30 s, and 72°C for 30 s and a final extension step at 72 °C for 5 min. Replicate amplicons were pooled and sent to the Genome Québec Innovation Center for multiplexing and Illumina paired-end (2 $\times$ 300 bp) MiSeq sequencing. Sequence quality filtering and analyses were performed as described by Potard et al. (2017).

Data statistical analyses

The statistical analyses were performed using the R software (R Version 3.2.1, Vienna, Austria). The index of shannon was calculated with the package "vegan" (Oksanen et al., 2015). Analysis of variance were used to test the differences between all the modalities for diversity, VOCs fluxes and bacterial OTUs abundance. A PLS-DA model was used to maximize the explanatory variance including a calibration and a cross-validation phase. The multi-correlation analyses between the three matrices obtained (soil chemical properties, bacterial OTUs and VOCs spectra) were performed using the packages "RGCCA" (Tenenhaus and Guillemot, 2013). Only positive scores of correlation upper than 0.7 were used to realized the different networks.

4.3 Results

Phylogenetic charaterization of the bacterial inocula derived from the cropped and the wet meadow soils

The inocula from the cropped and the wet meadow soils were composed of 5019 and 4899 OTUs, respectively, and among these OTUs, 4850 were shared between the two inocula. There was therefore a strong redundancy between the two bacterial communities. However, the relative abundance of each OTU was highly different between the inocula. The bacterial communities of each inoculum (Web Figures 3) were dominated by the same five families, i.e. *Oxalobacteraceae*, *Shingo-bacteriaceae*, *Pseudomonaceae*, *Burkholderiaceae* and *Xanthomonadaceae*, although their relative importance were different.

Bacterial communities in the three inoculated soils

The five main families found in the inocula were detected in all the inoculated soils except in the wet meadow soils supplied with its own inoculum (IWMS). In this case, the *Shingobacteriaceae* family was replaced by the *Flavobacteriaceae* one. Whatever the

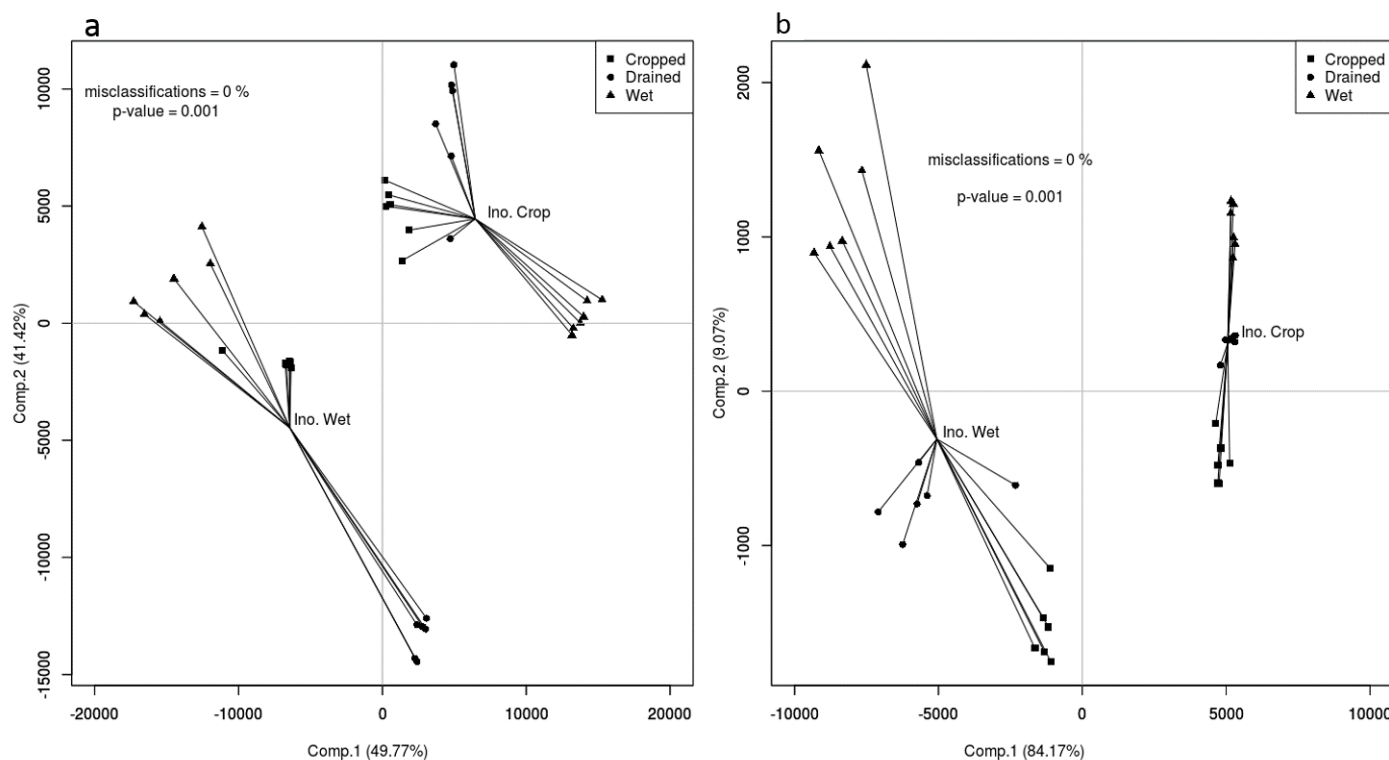


FIGURE 4.1 – (a) The PLS-DA model representing the bacterial community composition in the three inoculated soils at the OTU level and based on the inoculum source. (b) the PLS-DA model representing the VOCs spectra emitted by the inoculated soils based on the inoculum origin (Ino. Wet : inoculum extracted from the wet meadow soil ; Ino. Crop. : inoculum extracted from the cropped soil).

soil inoculated and the inoculum supplied, the *Oxalobacteraceae* family always dominated the bacterial communities, representing up to 30% of the sequences (WebFigure 4). The composition of the 25 main bacterial families depended on the inoculum rather than on the inoculated soil. These 25 main bacterial families corresponded to more sequences in soils inoculated with the wet meadow inoculum than with the one from the cropped soil ($83\,613 \pm 33\,291$ and $31\,333 \pm 5\,507$ sequences, respectively). The bacterial communities of the inoculated soils depended mainly on the inoculum added to the soil and to a lesser extend on the kind of soil in which they have been inoculated (Figure 4.1.a).

The VOCs spectra emitted by the inoculated soils

The VOCs flux was significantly higher in soils that received the IWMS, for a same soil, the VOCs flux was up to twice more important when inoculated with IWMS than with ICS. At the same time, for both inocula, the VOCs flux was significantly ($P < 0.05$) higher in the inoculated wet meadow soils, followed by the drained meadow and the cropped soils. The VOCs spectra emitted by the inoculated soils depended mainly on the inoculum added and to a lesser extend on the kind of soil in which they have been inoculated (Figure

4.1b). In the three soils inoculated with the ICS, the VOCs diversity was higher than in soils inoculated with IWMS (3.3 ± 0.1 vs 2.4 ± 0.2 , respectively) and the spectra were always dominated by the mass 126 (Figure 2). Otherwise, cropped and drained meadow soils inoculated with ICS emitted the three same main masses (126, 121 and 107). In the three soils inoculated with the bacterial communities from IWMS, the three main VOCs were always the same (mass 47, 65 and 45) with a dominance of the mass 47 ($32\% \pm 6$ of the total VOCs flux).

Relationships between the bacterial communities, the soil chemical properties and the VOCs emissions

The soil chemical properties (C, N, S contents and pH) explained 26% of the variance of soil VOCs emissions, while 46% was explained by the composition of the bacterial communities and 88% by the interaction between soil properties and bacterial communities. These interactions are represented by two correlation networks constructed with 45 219 sequences corresponding to 1 738 OTUs and 49 981 sequences corresponding to 1 831 OTUs for the soil inoculated with the ICS and IWMS, respectively (figure 4.3). A same OTU could be significantly related to different VOCs depending on its inoculum source. For example, the OTU 66 corresponding to a sequence highly similar to *Pseudomonas aeruginosa* and representing from 25% to 37% (depending on the inoculum) of all the *Pseudomonaceae* sequences was correlated with the mass 87 in soils inoculated with IWMS while it was related to the mass 95 in soils inoculated with ICS. Among the soil properties measured, the pH was the most important regulating factor influencing the distribution of the bacterial OTU (figure 4.3). Some VOC masses were only correlated to bacteria controlled by soil pH, such as the masses 87 and 95. Other masses, such as 63, 57 and 93, only relied on bacteria controlled by of the soil C, N or S content (figure 4.3). Interestingly, a same OTU was significantly related to different VOCs depending on its inoculum origin. For example, the OTU 66 corresponding to *Pseudomonas aeruginosa* (25% to 37% of sequences of *pseudomonaceae*) was correlated with the mass 87 in soils. The construction of these two networks was justified by several relationships showing some biological reality. For example the mass 63, corresponding to dimethylsulide, was related in part to bacteria correlated with the sulfur content in soil. Similarly, the mass 56 corresponding to propionitrile (C_3H_5N) was linked to bacteria correlated with the nitrogen content in soil.

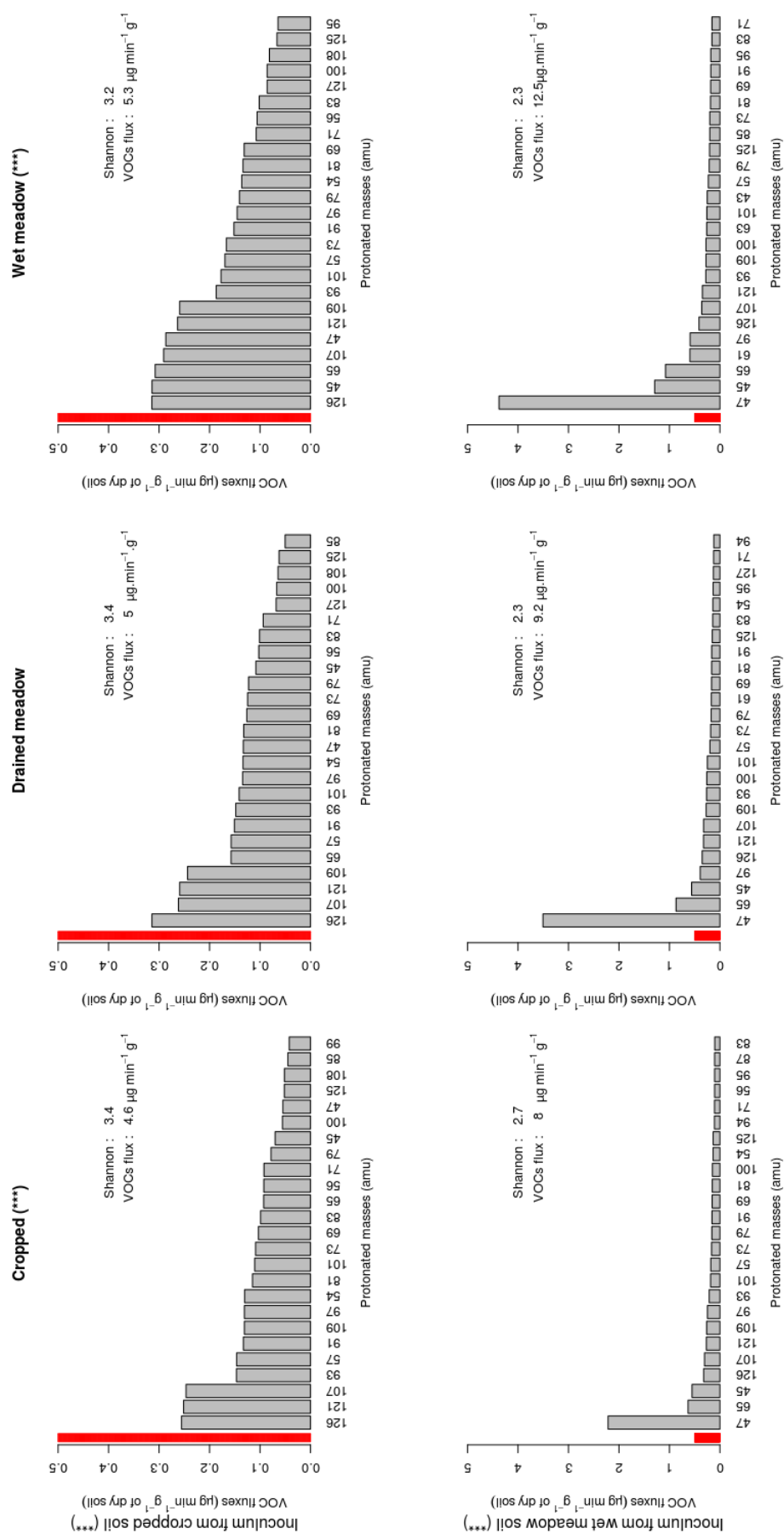


FIGURE 4.2 – VOCs fluxes emitted by the cropped, the drained meadow and the wet meadow soils differently inoculated. Fluxes in $\mu\text{g min}^{-1} \text{g}^{-1}$ of dry soil of the twenty most dominant masses are presented. The diversity of the VOC spectrum (Shannon index) and the total VOCs fluxes, calculated from all the masses detected, are presented for each inoculated soil. The red bar scale represents a VOCs flux of $0.5 \mu\text{g min}^{-1} \text{g}^{-1}$ of dry soil. *** : represents the significant differences in terms of total flux for the 6 modalities according to the performed Anova.

4.3.1 Discussion

The regulation of VOCs emissions

Our hypothesis, which suggested that VOC spectra relied mainly on the composition of bacterial communities and to a lesser extent on soil chemical properties, has been validated. Nevertheless, our results showed that two bacteria phylogenetically identical (same OTU) have the potential to produce different VOCs depending on their original habitat. In our study, the two weeks of incubation may not be sufficient to offset the inoculum source effect of the communities extracted from the two different soils. This theory is in agreement with the concept of core metabolome and the adaptation of bacterial metabolic pathways described in (Frimmersdorf et al., 2010). It would therefore be interesting to carry out a similar experiment by considerably increase the incubation time in order to test whether the VOCs spectrum evolve and end up to be mainly differentiated as a function of the inoculated soil and not as a function of the origin of the inoculum. According to these results, the bacterial 16S rRNA gene might not be the best indicator to study the link between soil bacterial communities and the VOCs emission because it does not provide functional indication whereas exchanges of genetic information between bacteria are frequent. These exchanges might have allowed a functional divergence of two phylogenetically identical bacteria that occurred in the original habitat of each inoculum. Rather than a phylogenetic diversity analysis, a metabolomic approach could be more relevant to identify a potential link between soil bacteria and VOC spectra emitted by soil. Indeed, metabolomics would give access to the metabolite profiles of soil microorganisms and, in the present study, it would have been interesting to compare the VOCs spectra to the soil metabolite profile. Moreover, the metabolite profile integrate the interaction between soil chemical properties and active bacterial communities since these abiotic factors regulate bacterial metabolic activities.

The interaction between the composition of bacterial communities and soil chemical properties was therefore the main determinant for explaining the VOCs spectrum emitted by soils. The composition of soil bacterial communities was strongly correlated with the soil chemical properties, such as pH as previously observed (Lauber et al., 2008). The emissions of VOCs could be regulated through modifications of the soil properties that control the soil bacterial communities. This could help to mitigate the climatic impact of VOCs. However, our study is carried out under laboratory conditions, so we have not taken into account the relationships with all the abiotic parameters, such as atmospheric pressure or the wind that is known to have an impact on the flux of soil VOCs (Peñuelas et al., 2014; Redeker et al., 2015).

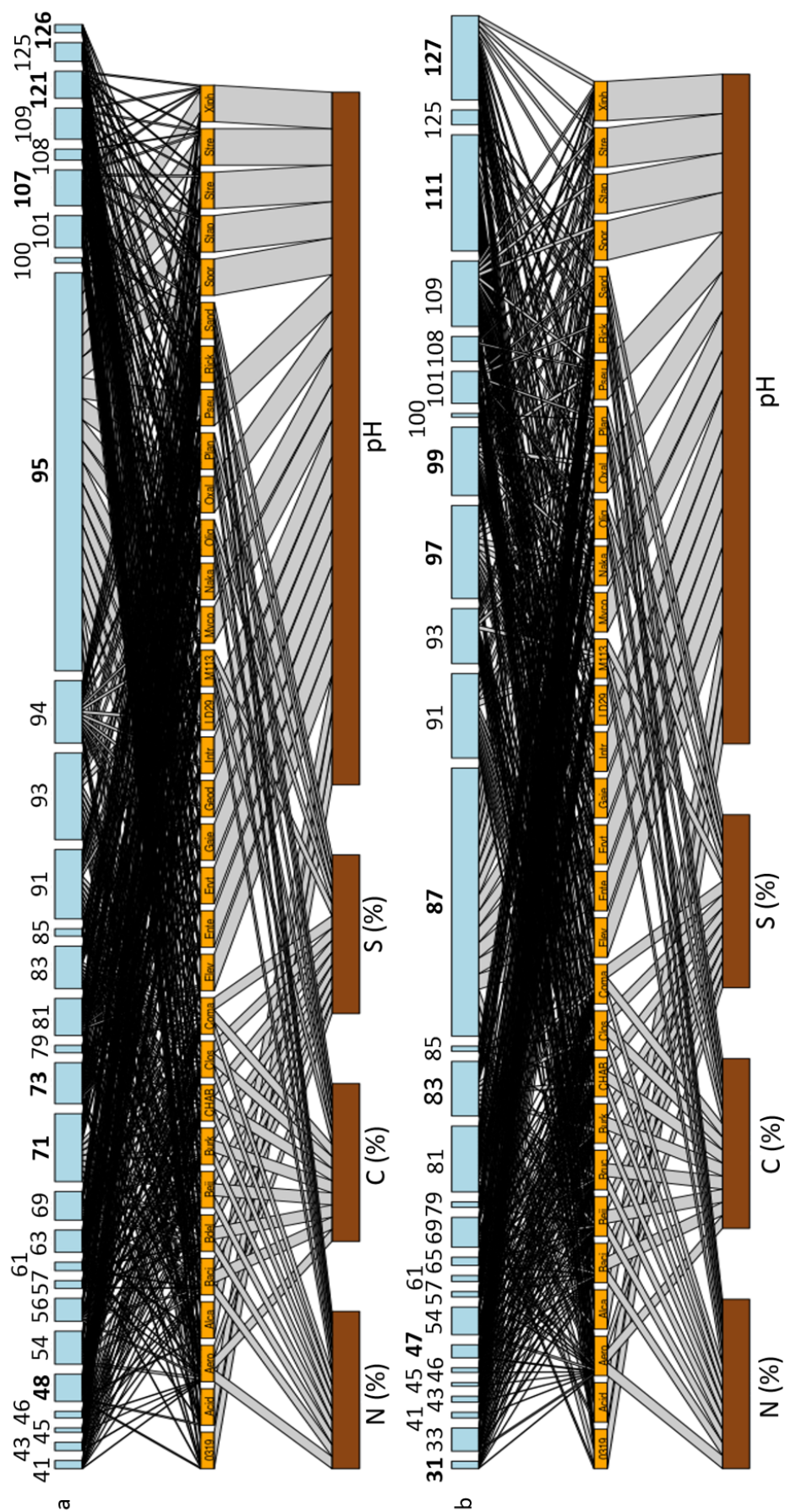


FIGURE 4.3 – Relationship network calculated in the soils inoculated by the bacterial communities extracted from the cropped soil (a) and from the wet meadow soil (b). The network represents the highly positive regulation (correlation score upper than 0.70) of bacterial families by the edaphic factors measured and the consequences on the VOCs emitted by these bacterial families. The discriminant masses in the figure 1 (b) are represented here in bold

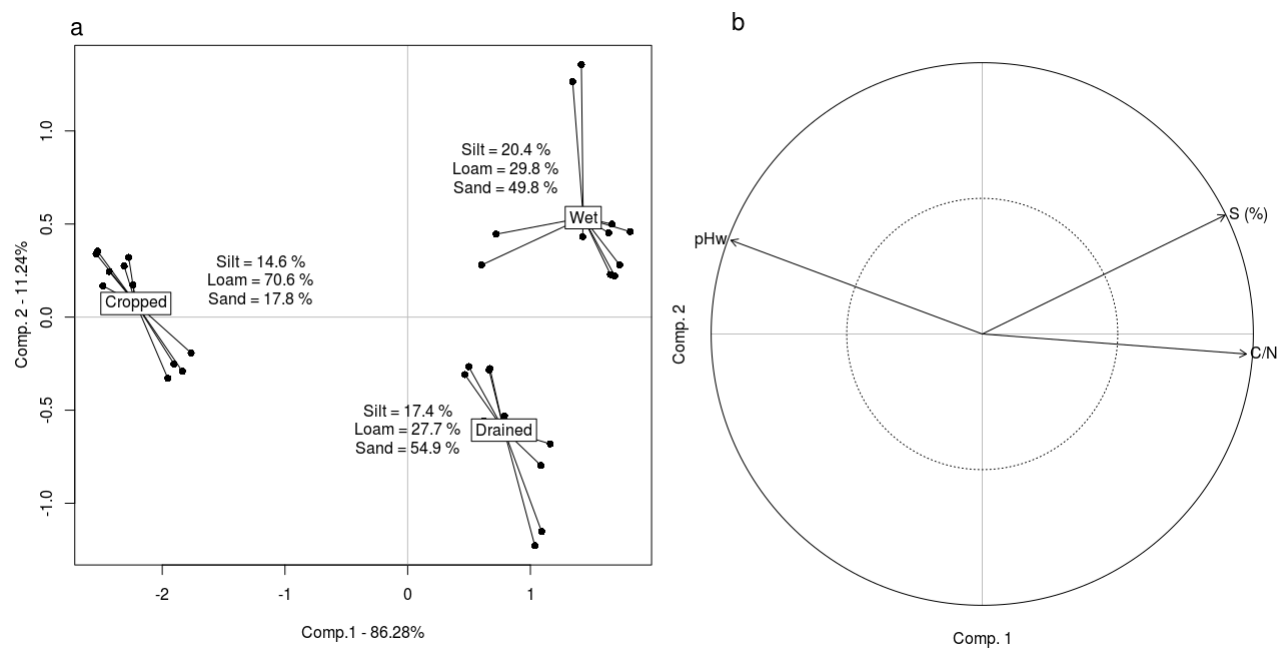
VOCs emissions policy and global change

On field, wet meadow soils are often clogged with water, limiting the emission of VOCs from soils in these anaerobic conditions. We can speculate that if this constraint is removed, even partially, an increase in VOCs fluxes from these soils could be observed since, in the present study, microbial communities originating from wet meadow soils seemed to have high VOCs emission potential. IPCC scenarios (IPCC, 2015) predict an increase in rainfall variability, which is expected to increase the risk of drought in several areas such as wet meadow soils, that could become a strong source of VOCs. These fluxes and their associated impacts on atmospheric chemistry are not taken into account in the global change scenarios. Knowing that VOCs modify the proportion of air pollutants (Atkinson, 2000) that significantly modify the global radiative balance (Ramanathan and Feng, 2009), then it is essential to take VOC fluxes into account to increase the effectiveness of predictions concerning global changes.

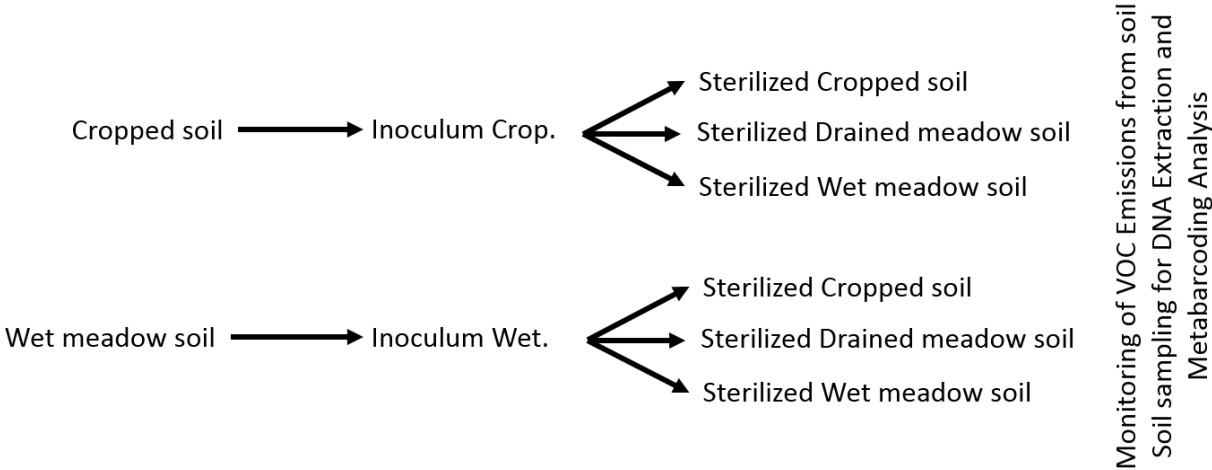
Perspectives for the identification of microbial communities by VOCs emissions

No VOCs was specific to a single OTU neither a bacterial family, which introduces several questions. First, is the bacterial phylogenetic diversity the most suitable indicator to target? Indeed, VOCs may be more characteristic of a metabolic activity than of the composition of a given bacterial community. This relationship is also suggested by Bunge et al. (2008). Secondly, it can also be assumed that the volatile spectrum of a given bacteria would be a VOC assemblage rather than the presence of a single molecule. This approach is consistent with the results of Potard et al (2018), which show a specificity of VOC spectra depending on soil uses.

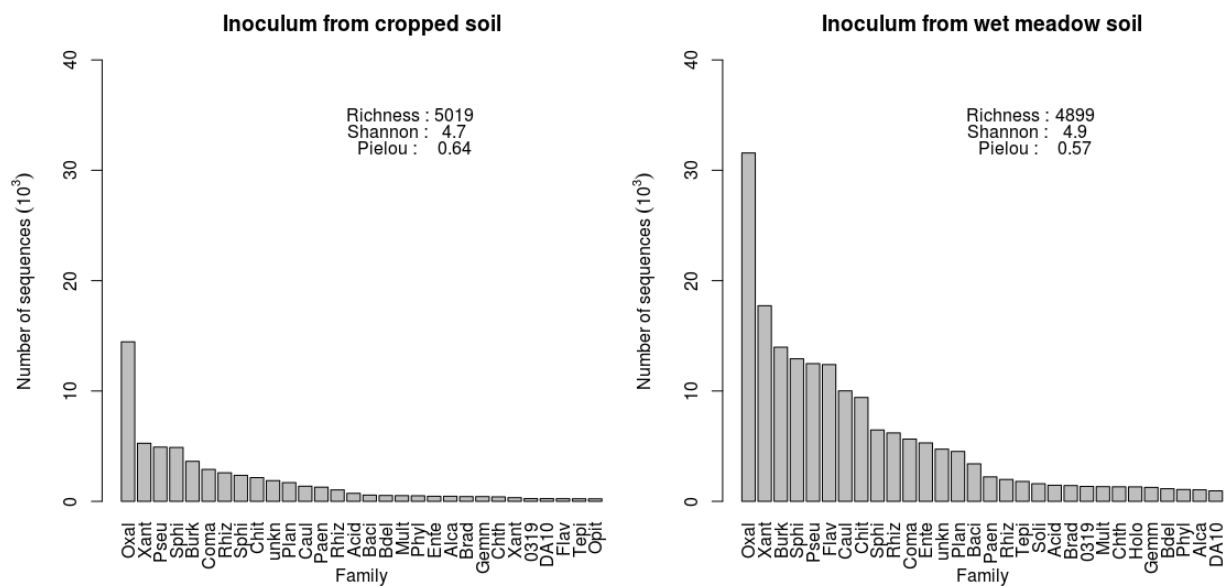
4.3.2 Supplementary Information



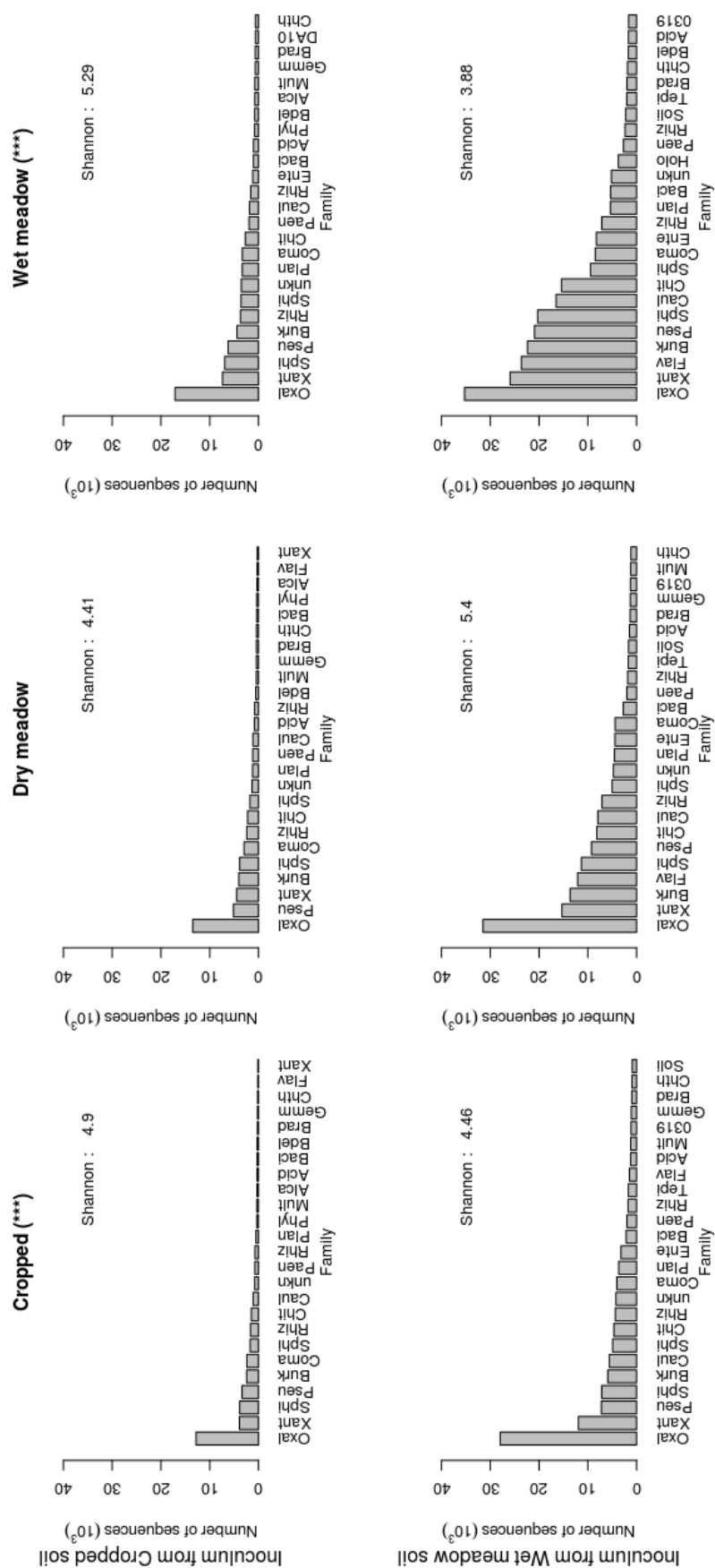
Web Figure 1 - PCA model representing the soil characteristics. (a) Results for individuals.(b) Circle of correlations, the intern circle represents the score of 0.5 and the extern circle represents the maximum value of 1



Web Figure 2 - Design experimental



Web Figure 3 - Number of sequences in the 25 most important bacterial families detected in the inocula extracted from the cropped soil (a) and from the wet meadow soil (b). For both inocula, the total sequence number was 125 114.



Web Figure 4 - Number of sequences of the 25 most abundant bacterial families according to the inoculum (rows) and the 3 different soils (columns). For each samples, the total amount of sequences is 125 114.

4.4 Etude des liens entre la nature de la matière organique et les émissions de COVs par le sols

4.4.1 Contexte

Au cours de la thèse, l'exploration des mécanismes abiotiques des émissions de COVs a nécessité le développement d'un dispositif expérimental spécifique pour mesurer à petite échelle spatio-temporelle les émissions de COVs à partir de microcosmes de sol incubés en conditions contrôlées de laboratoire. Ce développement technique aura été le support, à la réalisation de plusieurs expérimentations dans lesquelles la source de matière organique (MO) a été différemment manipulée et contrôlée. Des molécules organiques « modèles » ont ainsi été utilisées. Dans un objectif de valorisation de ce travail, les résultats obtenus sont synthétisés et présentés ci-dessous. Ils permettent notamment de déterminer dans quelle mesure la nature des molécules organiques disponibles à la biodégradation définit le spectre de COVs émis par une communauté microbienne. D'après la littérature et compte tenu de la structure chimique des molécules (figure 4.4) apportée, on sait que i) des molécules facilement dégradables seront intégralement minéralisées sous forme de CO₂ limitant la production de COVs et ii) les voies métaboliques de dégradation des microorganismes sont différemment mobilisées en fonction des molécules à dégrader. Nous avons alors testé les hypothèses suivantes :

- i Les flux de COVs émis augmentent avec le degré de complexité (degré de polymérisation) d'une molécule organique.
- ii Les inhibitions ou stimulations des émissions de COVs sont spécifiques des molécules organiques apportées.

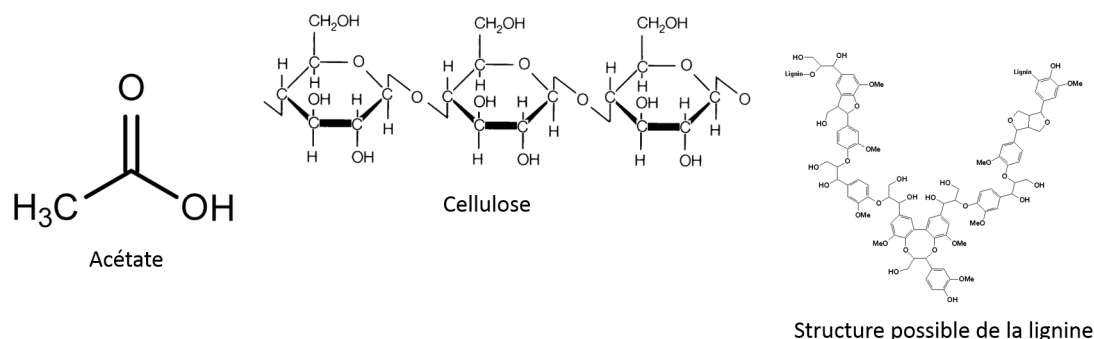


FIGURE 4.4 – Structure des trois molécules utilisées dans le cadre de ces expérimentations, avec de gauche à droite, une molécule d'acétate, un polymère de glucose : la cellulose et une des structures possibles de la lignine utilisée.

4.4.2 Matériels et méthodes

Effet de la dégradabilité des molécules organiques apportées : cas de l'acétate

Le sol utilisé dans cette expérimentation provient d'une parcelle du site EFELE soumise au régime de fertilisation avec de l'azote minéral (figure 4.5), échantillonnée le 16 juin 2016. Nous avons choisi cette parcelle pour deux raisons : i) l'apport d'azote sous forme d'engrais assure que l'azote ne sera pas un élément limitant pour la dégradation de la molécule organique apportée et ii) le taux de MO bas liée à l'absence de fertilisation organique sur cette parcelle est plus favorable pour observer l'effet de notre apport organique (évitements d'un effet croisé). Deux modalités expérimentales ont été définies et correspondent à : un sol sans aucun apport qui servira de contrôle et un sol avec un apport d'acétate (exp1). L'apport a été normalisé par rapport à la quantité de carbone apporté par gramme de sol sec, soit 6 mg de carbone par gramme de sol sec correspondant à 6 fois la dose de carbone présente dans le sol initial; chacune des deux modalités expérimentales est représentée par 4 microcosmes contenant 10 grammes de sol sec (réplicats) réhumidifiés à 80% de la WHC et incubés à 20°C pendant 10 jours à l'obscurité. Au cours de l'incubation, les microcosmes de sol sont fermés sur le dessus par un filtre de 0.2 μm permettant les échanges gazeux, avec l'air ambiant de la chambre climatique, mais pas le dépôt des microorganismes aérosolisés. Les mesures d'émissions de COVs ont été réalisées avec le PTR-MS, dans les mêmes conditions que celles décrites par Potard et al. (2017). Les émissions concomitantes de CO_2 ont été mesurées grâce à une $\mu\text{-GC}$ (cf chapitre 2). Avant chaque prélèvement et mesure de gaz, les microcosmes sont hermétiquement fermés pendant une période de 15 min permettant l'accumulation des gaz et leur mesure par unité de temps. Les prélèvements et mesures ont été faits à la suite de l'apport de l'acétate (Day 0) puis 3, 7 et 10 jours après l'apport.

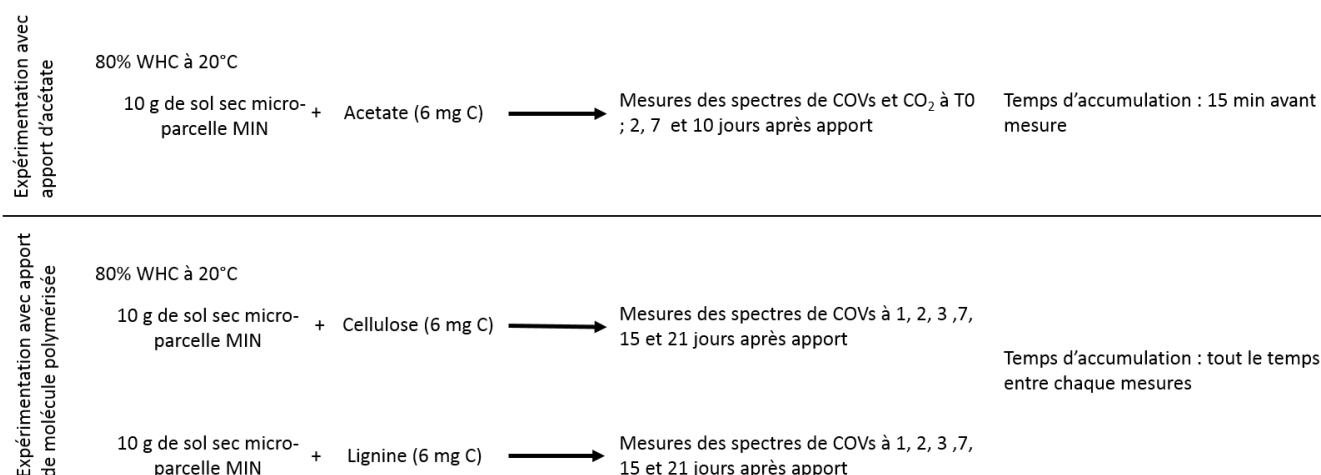


FIGURE 4.5 – design expérimental des deux expérimentations réalisées dans le cadre des essais pour la mise au point du dispositif de mesure des COVs en microcosme.

Effet de la dégradabilité des molécules organiques apportées : cas de molécule polymérisée, la lignine et la cellulose

Le sol utilisé dans cette seconde expérimentation est le même que celui utilisé dans la première expérience avec l'acétate, mais son prélèvement a été effectué le 26 février 2016. Les trois modalités correspondent à un sol sans aucun apport qui servira de contrôle, à un sol avec un apport de cellulose et un sol avec un apport de lignine. Les deux apports ont été normalisés par rapport à la quantité de carbone apporté soit 6 mg par gramme de sol sec. Chacune des trois modalités est représentée par 5 microcosmes contenant 10 grammes de sol sec (replicat, $n=5$), réhumidifiés à 80% de la WHC et incubés à 20°C pendant 21 jours à l'obscurité. Au cours de l'incubation, les microcosmes de sol sont fermés de manière à empêcher les échanges gazeux entre le "headspace" et l'air de la pièce. Les mesures ont été faites 1, 2, 3, 7, 15 et 21 jours après l'apport (figure 4.5).

4.4.3 Résultats et discussion

La modification du spectre de COVs induit par l'apport d'acétate

La concentration totale des spectres de COVs émis par les sols après un apport d'acétate sur une accumulation de 15 min est comprise entre 1100 et 2800 ppbV pour une moyenne de 1270 ppbV. La concentration des spectres de COVs observée de 2800 ppbV est liée à la date du 3ème jour, après apport de l'acétate, uniquement. Pour chaque date d'échantillonnage, les concentrations de COVs mesurées dans les microcosmes contrôles ont été soustraites à celles des microcosmes ayant reçu de l'acétate, ces différences de concentration sont présentées dans les figures 4.6, 4.8 & 4.7. Immédiatement après l'apport d'acétate (Day 0), des différences significatives dans l'émission de certaines masses de COVs émises étaient déjà observables (Figure 4.8). Ainsi, les masses 33 (méthanol), 39, 47 (éthanol) et 73 (2-butanone) sont significativement moins émises dans les sols ayant reçu de l'acétate que dans les sols sans apport (contrôle). A l'inverse, les masses 43, 45 (acétaldéhyde), 61 et 63 (DMS) sont significativement plus émises dans les sols avec un apport d'acétate que dans les sols contrôles.

La diminution d'émissions de certains COVs par rapport au contrôle observée lors de l'apport d'acétate peut être soit liée 1) à une production plus faible par les microorganismes ou/et 2) à une augmentation de la consommation par les microorganismes.

Une étude (Bunge et al., 2008) suggérait qu'en milieu liquide des changements dans le spectre de COVs étaient liés à l'activation des voies métaboliques des microorganismes. Or dans le cas de notre étude, le fort apport de MO déséquilibre le système, ce qui pourrait induire 1) un changement d'activité métabolique pour des microorganismes spécifiques et 2) un arrêt de certaines voies métaboliques de dégradation. Dans ce cas, les masses 43, 45 (acétaldéhyde), 61 et 63 (DMS) correspondraient aux voies métaboliques nouvellement

activées.

Les masses 45 (acétaldéhyde) et 63 (DMS) sont significativement plus émises trois jours après l'apport et ce jusqu'à la fin de l'expérimentation. Ce résultat suggère que ces deux masses pourraient servir comme proxy de la dégradation de l'acétate.

Sept et dix jours après l'apport d'acétate, la masse 33 (méthanol) est également significativement plus émise. Ce résultat est cohérent avec ce que nous avons montré dans la section 3.3. C'est un argument supplémentaire, obtenu en laboratoire, de l'émission de méthanol par les sols lors de l'ajout de molécule organique labile. La différence d'émissions entre les deux modalités est néanmoins inférieure à ce qui est observé sur le terrain où il a été observé jusqu'à dix fois plus de méthanol émis dans les sols avec un apport de lisier de porc. Dans le cas des incubations en conditions contrôlées la température du sol est à 20°C, comme celle de l'air. Il n'y a donc pas de gradient de température entre les deux compartiments comme cela est observé sur le terrain. Or on sait que le gradient de température est un des facteurs abiotiques qui gouverne l'émission des gaz par les sols. De plus, la température du sol est plus élevée que celle mesurée lors du flush de méthanol après l'apport de lisier de porc, soit 20°C et $\approx 12^\circ\text{C}$. Or, la température contrôle en partie l'activité de dégradation des MO du sol. Et on sait que le méthanol est facilement dégradable (Novak et al., 1985).

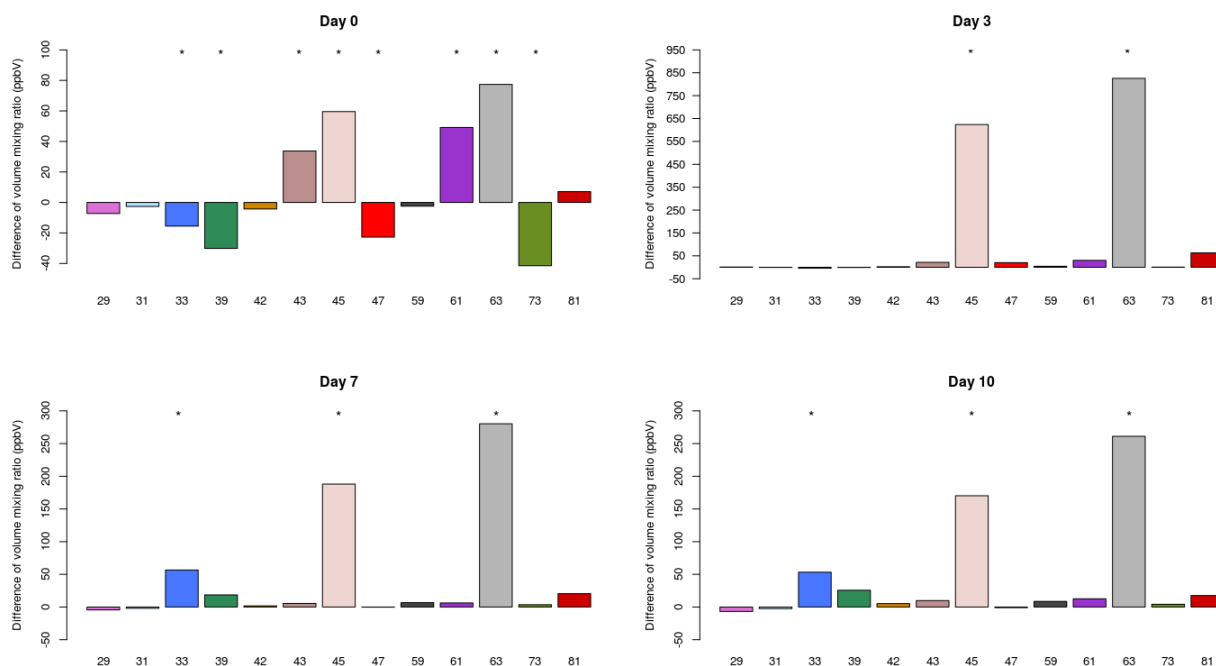


FIGURE 4.6 – Différences de concentration des masses majoritaires émises par le sol enrichi en acétate et le sol sans apport (contrôle) le jour de l'apport (Day 0) et 3, 7 et 10 jours après l'apport. Les * correspondent aux masses qui sont significativement différentes entre les deux modalités.

4.4 Etude des liens entre la nature de la matière organique et les émissions de COVs par le sols

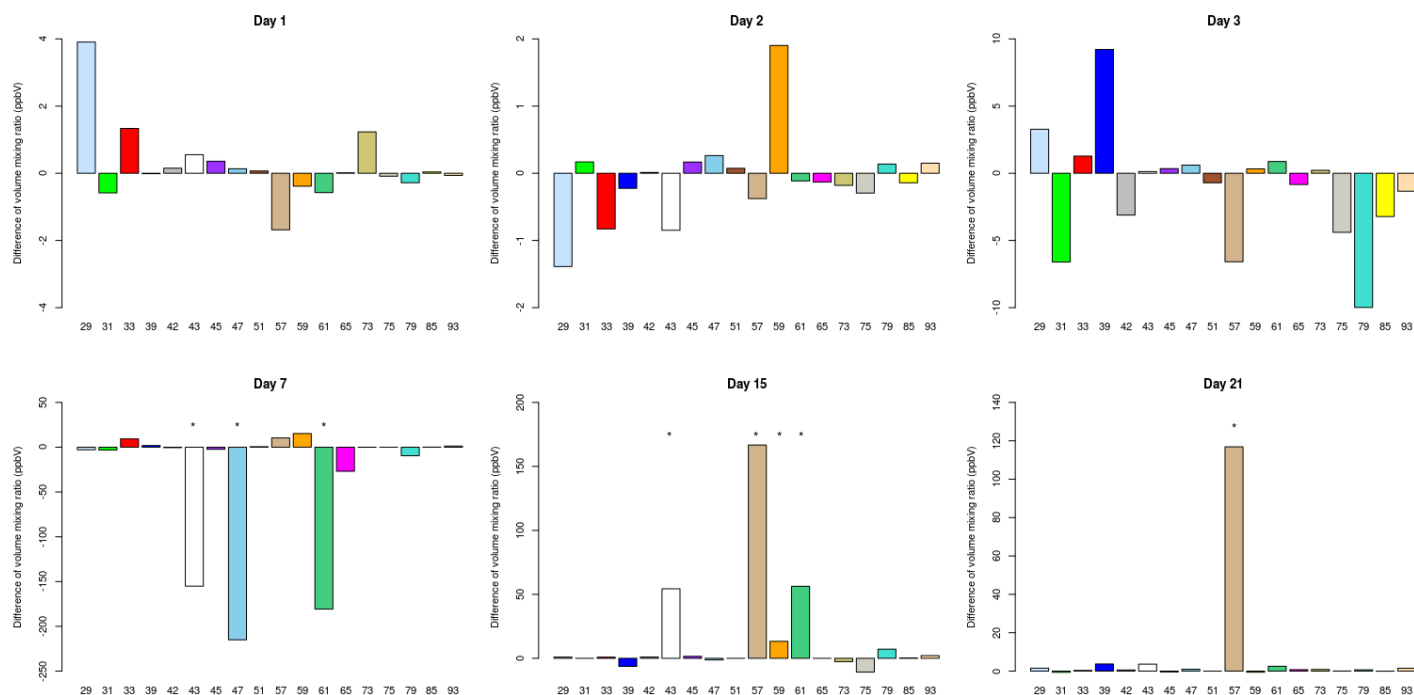


FIGURE 4.7 – Différences de concentration des masses majoritaires produites entre le sol avec un apport de lignine et le sol sans apport (contrôle) 1, 2, 3, 7 15 et 21 jours après l’apport. Les * correspondent aux masses qui sont significativement différentes entre les deux modalités.

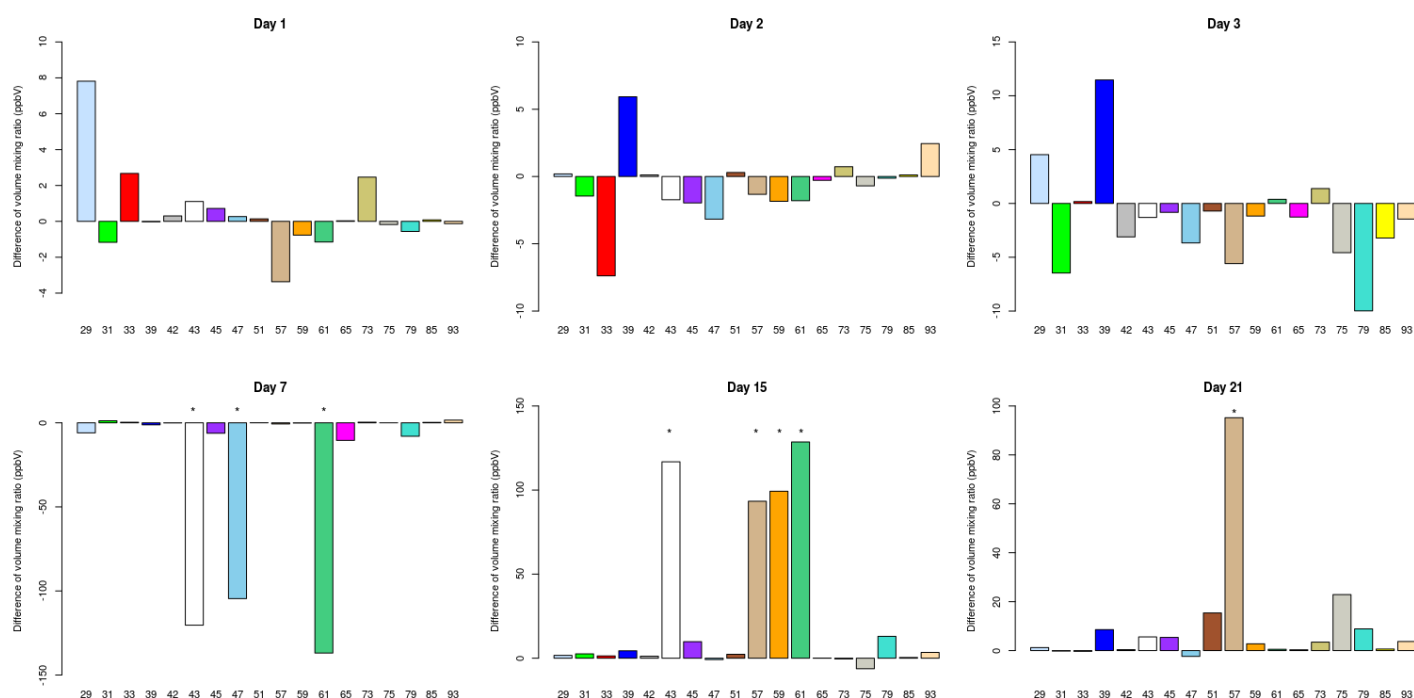


FIGURE 4.8 – Différences de concentration des masses majoritaires produites entre le sol avec un apport de cellulose et le sol sans apport (contrôle) 1, 2, 3 7, 15 et 21 jours après l’apport. Les * correspondent aux masses qui sont significativement différentes entre les deux modalités.

La modification des spectres de COVs induit par l'apport de molécule organique polymérisée

La concentration totale des spectres de COVs émis par les sols ramenée sur une accumulation de 15 min est comprise respectivement pour la cellulose et la lignine entre 800 et 1120 ppbV pour une moyenne de 1010 ppbV et entre 790 et 1080 ppbV, avec une moyenne de 920 ppbV. Les différences de spectre de COVs observées les trois premiers jours de l'expérimentation, entre le sol contrôle et les sols avec un apport de cellulose ou de lignine, est négligeable par rapport à la concentration totale (figure 4.8 & 4.7). Au bout du septième jour, les spectres de COVs émis sont suffisamment différents entre les traitements pour considérer que l'on observe un effet lié à l'apport de la molécule (lignine ou cellulose). Les masses 43, 61 et 47 (éthanol) sont significativement moins émises dans les sols avec un apport de cellulose ou de lignine. Le quinzième jour, les masses 43, 57 (1-butanol), 59 (acétone) et 61 étaient significativement plus élevés dans les sols avec un apport de cellulose. Le vingt et unième jour, seule la masse 57 (1-butanol) est significativement plus émise par les sols avec un apport de molécule organique (cellulose ou lignine). La concentration de la masse 57 était, cependant, significativement plus importante dans les sols avec un apport de lignine.

Il est difficile d'expliquer ces dynamiques à l'aide de la bibliographie. Quelques auteurs (Lamsen and Atsumi, 2012) ont, cependant, travaillé sur la dégradation de la cellulose par la bactérie *Clostridium*. Ils ont montré que en aérobie cette bactérie a la capacité de dégrader la cellulose en 1-Butanol (figure 4.9), que l'on suppose être la masse 57 dans nos spectres de COVs.

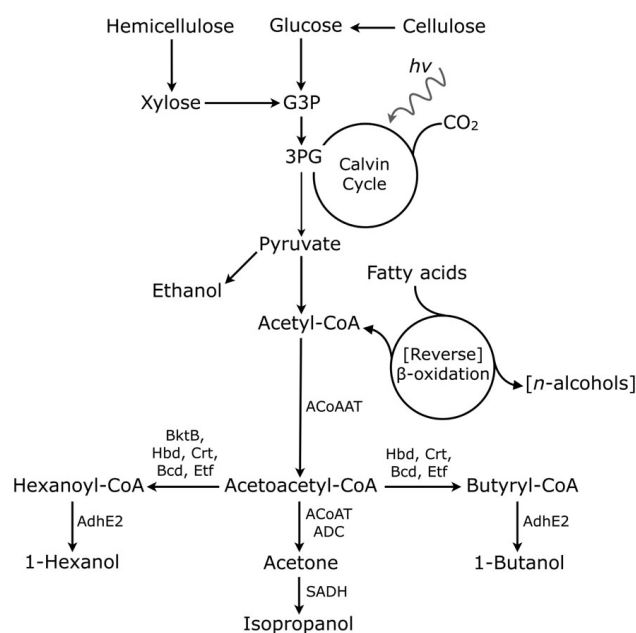


FIGURE 4.9 – Représentation des voies métaboliques dépendant de la CoA pour la production de biofuel. Extrait de Lamsen and Atsumi (2012).

A ma connaissance, il n'existe pas de travaux sur la relation entre la dégradation de la lignine en aérobie et les spectres de COVs, permettant de relier le 1-butanol avec des voies métaboliques de dégradation.

La modification des flux de gaz induit par l'apport d'acétate

Dans le cas de la modalité avec acétate, un flux de COVs significativement plus faible que dans les microcosmes contrôles était observé juste après le début de l'expérimentation (Day0). Cette diminution du flux total de COVs est corrélée à un flux de C-CO₂ également moins important en présence d'acétate que dans les microcosmes avec le sol contrôle (figure 4.11). A ma connaissance, il n'y a pas d'article dans la bibliographie permettant de relier les changements de voies métaboliques microbiennes et les flux de COVs dans le cas d'un apport de molécule organique. On peut néanmoins supposer que l'apport d'acétate induit un changement des voies métaboliques microbiennes, ce qui nécessite une forte quantité d'énergie induisant, dans un premier temps, une diminution de l'activité globale des microorganismes du sol.

Le flux de COVs émis par le sol seul (contrôle ; figure 4.10) diminue progressivement avec le temps, passant de 0.51 ng min⁻¹ g⁻¹ en début d'expérimentation à 0.12 ng min⁻¹ g⁻¹ le dixième jour soit une réduction par 3.

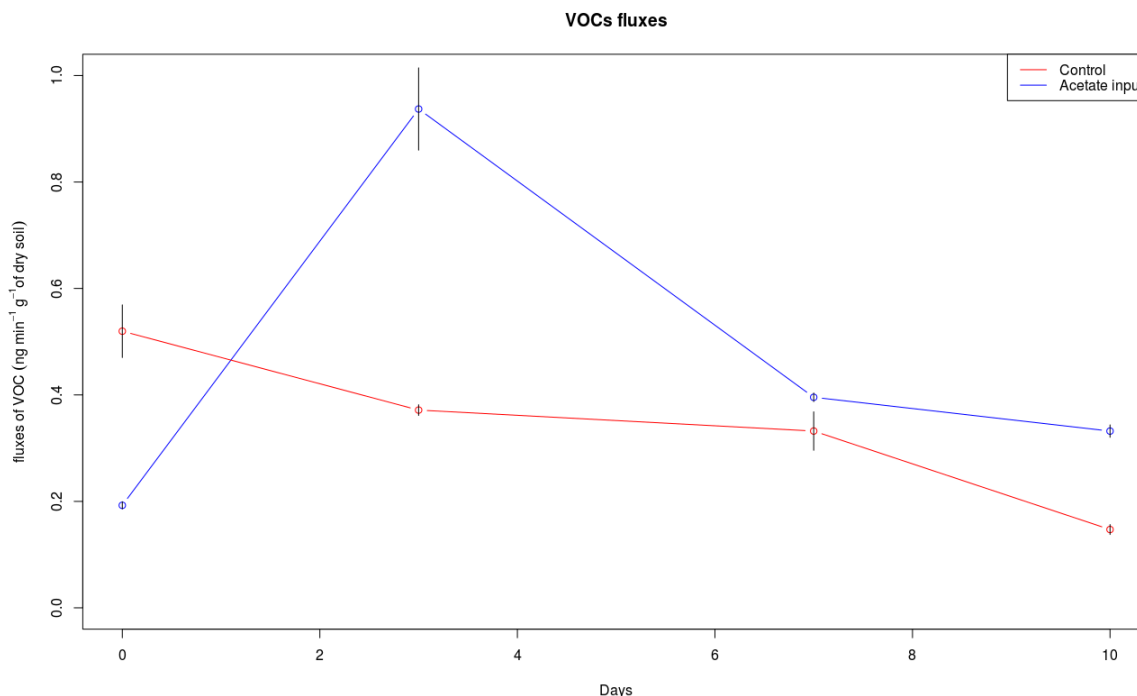


FIGURE 4.10 – Flux de COVs (ng min⁻¹ g⁻¹ de sol sec) en fonction du temps (en jour) dans les microcosmes de sol sans apport (Control) et dans ceux ayant reçu de l'acétate (Acetate input). Les barres d'erreurs représentent les écarts types (n= 4).

En présence d'acétate, les émissions de COVs sont significativement plus élevées au troi-

sième jour de l'expérimentation, passant de $0.19 \text{ ng min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ à $0.93 \text{ ng min}^{-1} \text{ g}^{-1}$. Après sept et dix jours d'incubation, le flux a diminué respectivement à $0.41 \text{ ng min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ et à $0.37 \text{ ng min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ mais reste significativement supérieur des sols contrôles.

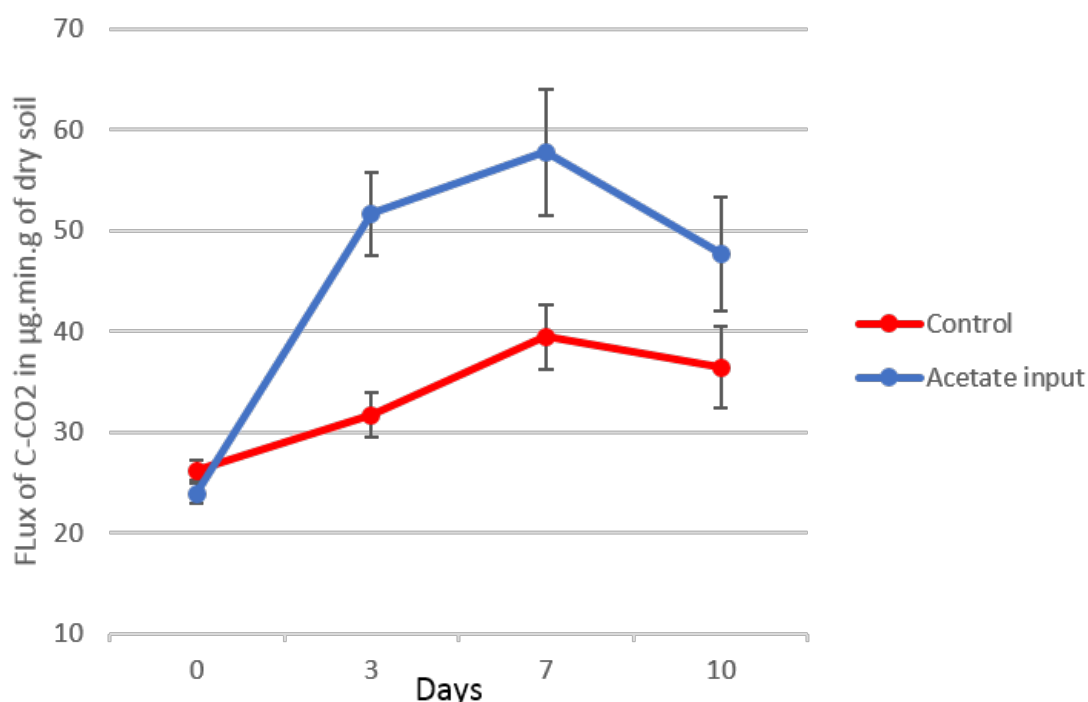


FIGURE 4.11 – Flux de CO₂ ($\mu\text{g min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de sol sec) en fonction des temps (en jour) pour le sol sans apport (Control) et le sol avec un apport d'acétate (Acetate input). Les barres d'erreurs représentent les écarts types ($n=4$).

La modification des flux de COVs induit par l'apport de molécule polymérisée

Les flux de COVs émis par les sols enrichis en cellulose ne présentent pas de différence significative avec le sol sans apport, avant le septième jour d'expérimentation (figure 4.12). Sept jours après l'apport, le flux provenant des sols est inférieur au flux des sols sans apport. L'inverse était observé le quinzième et vingt et unième jour de l'expérimentation. Le septième jour et le vingt et unième correspondaient respectivement aux maxima et minima des flux mesurés, soit $0.37 \text{ ng min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ et $0.07 \text{ ng min}^{-1} \text{ g}^{-1}$.

La dynamique des flux de COVs provenant des sols avec un apport en lignine ont un pattern semblable à ceux des sols avec un apport en cellulose, avec respectivement un maxima et un minima $0.33 \text{ ng min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ et $0.06 \text{ ng min}^{-1} \text{ g}^{-1}$.

Comparaison des modifications du spectre de COVs en fonction du type de molécule apportée

A partir de deux expérimentations indépendantes, et différenciées sur le plan de la stratégie d'échantillonnage des gaz, il est possible d'observer des patterns similaires entre les deux expérimentations. Une dynamique similaire des émissions de COVs est observée

4.4 Etude des liens entre la nature de la matière organique et les émissions de COVs par le sols

suitant l'apport d'une molécule organique avec dans un premier temps une diminution d'émissions puis une émission accrue de certains COVs. La durée de ces deux phases ainsi que les COVs impactés (changement de concentration) dépend du degré de polymérisation de la molécule apportée au sol. Ce résultat suggère un changement, détectable par les COVs émis, dans les communautés de microorganismes lors d'un apport de molécule organique.

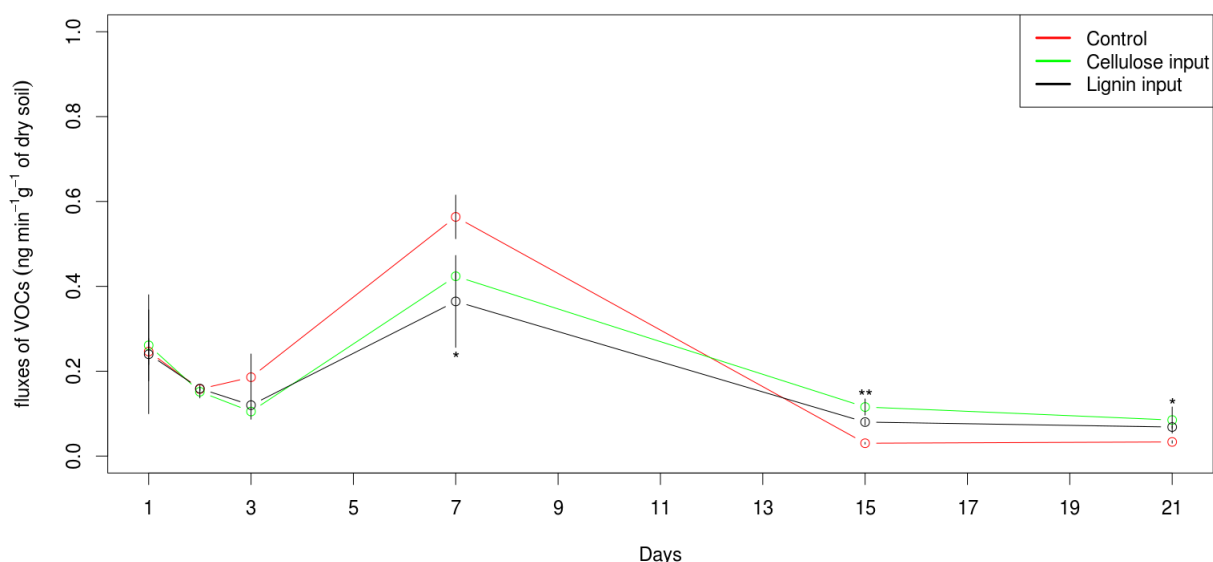


FIGURE 4.12 – Flux de COVs ($\text{ng min}^{-1} \text{g}^{-1}$ de sol sec) à 1, 2, 3, 7, 15, 21 jours émis par le sol sans d'apport (Control), le sol enrichi en cellulose (Cellulose input) et le sol enrichi en lignine. Les barres d'erreurs représentent l'écart type ($n=5$). * : il y a une différence significative entre les sols avec un apport et les sols sans apport, ** : il y a une différence significative entre les trois modalités.

Ce changement peut être expliqué par i) un changement des voies métaboliques des microorganismes pour dégrader la MO disponible ii) la sélection de certaines communautés microbiennes. Dans le second cas, les variations de spectres de COVs seraient dues à la stimulation des microorganismes opportunistes ayant une stratégie de développement de type "r".

Néanmoins ces observations sont à interpréter avec précaution du fait des conditions pas complètement standardisées entre les deux expérimentations. En effet dans le cas des incubations avec lignine et cellulose, les gaz émis par les échantillons de sol étaient accumulés dans les microcosmes entre chaque mesure, soit pendant plusieurs jours, alors que pour les incubations en présence d'acétate, une accumulation de 15 min était réalisée juste avant l'échantillonnage de gaz. Ces différences peuvent générer des biais dans les mesures car plus le temps d'accumulation est long, i) plus la pression partielle des COVs dans l'atmosphère des microcosmes augmente limitant leur émission par le sol et ii) plus

la dégradation microbienne des COVs émis est favorisée. L'accumulation entre les prélèvements tend à diminuer le flux de COVs comme cela peut être observé en comparant les flux de COVs émis par les sols contrôles dans les deux incubations. Ainsi, pour ces sols, avec accumulation les flux variaient de 0.03 à 0.57 ng min⁻¹ g⁻¹ alors que sans accumulation, ils étaient de 0.12 à 0.51 ng min⁻¹ g⁻¹. Une autre hypothèse, non exclusive, provient du fait que les sols ont été prélevés à des dates différentes. Les communautés microbiennes actives étaient, donc, sûrement différentes² d'autant plus que les conditions de température et d'humidité du sol n'étaient pas les mêmes.

4.4.4 Conclusion

Les résultats suggèrent que selon le type de molécule accessible à la dégradation par les microorganismes du sol, il y a une augmentation des flux de COVs, soit dans les heures qui suivent (acétate) soit après 7 jours d'incubation (cellulose et lignine). De manière générale, l'apport d'une molécule organique génère une augmentation de l'émission de quelques COVs spécifiques de la molécule apportée. Notons que dans les trois cas de molécule apportée, (acétate, cellulose et lignine) avant cette augmentation spécifique, il a été observé sur une date de prélèvement une diminution de certains COVs, comme l'éthanol (masse 47).

Il est cependant impossible de déterminer si les variations des spectres observées sont liées 1) à la nature de la MO apportée et dégradée par différentes voies métaboliques ou 2) à un changement de communautés microbiennes induit par l'apport. La quantification et l'analyse des communautés microbiennes auraient été nécessaires. De plus, un suivi au cours de l'expérimentation des teneurs en MO apportée aurait pu permettre de savoir quelle quantité de MO a été dégradée.

L'ensemble de ces résultats permet, néanmoins, d'apporter un argument supplémentaire à l'hypothèse de la relation entre le spectre de COVs émis et l'activité métabolique des microorganismes suggérée par Bunge et al. (2008).

Pour aller plus loin il faudrait premièrement refaire l'ensemble de ces expérimentations dans les mêmes conditions, pour en tirer des conclusions robustes. Puis deuxièmement, réaliser des expérimentations avec des molécules marquées pour quantifier la compétition entre la matière organique indigène des sols et celle apportée. Et conclure, troisièmement, en testant des mélanges de molécules organiques et de matière organique complexe, comme la paille ou du lisier de porc. Dans l'ensemble de ces expérimentations des mesures (au

1. le point de mesure 7 jours après l'apport est le seul au-dessus de 0.4 ng min⁻¹ g⁻¹, sinon le flux moyen est ≈ 0.20 ng min⁻¹ g⁻¹

2. En me basant sur les données des microorganismes actifs que j'ai quantifié et analysé durant ma thèse mais que je n'ai pas pu présenter dans ce manuscrit.

minimum) de l'activité enzymatique semble indispensable. En conclusion, à la vue de la forte diversité microbienne contenue dans un gramme de sol et d'une diversité tout aussi large de molécules organiques, cette première exploration du lien entre MOS et COVs menée dans cette thèse offre tout un nouveau champ d'investigation pour établir le degré de dépendance entre la qualité de la MO et la composition et flux de COVs émis.

Chapitre 5

Synthèse générale et Perspectives

5.1 Synthèse générale

5.1.1 Motivation du travail

Rappelons que les COVs sont définis comme tout composé organique ayant une pression de vapeur au moins égale à 0.01 kPa à 20°C, c'est dire que dans les conditions atmosphériques dans lesquelles nous vivons, il est possible de trouver ces molécules à l'état liquide ou gazeux. Les COVs sont émis par de nombreuses sources, tant biogéniques qu'anthropiques, et de par leur réactivité au sein de l'atmosphère contribuent au changement climatique, et engendrent de nombreux impacts tant sur l'environnement que sur la santé humaine (qualité de l'air). Notons que les émissions de COVs par le compartiment biologique sont 10 à 11 fois supérieures à celles du compartiment anthropique. Certains COVs, comme par exemple le formaldéhyde ou même le méthanol, sont directement nocifs pour la santé humaine lorsque des valeurs limites d'exposition sont dépassées. Par exemple, des concentrations en formaldéhyde dépassant les 500 ppbV dans l'atmosphère entraînent des irritations des yeux (Lang et al., 2008). Mais l'enjeu principal des COVs émis par le compartiment biologique est lié à leur très forte réactivité dans la troposphère. En effet, les COVs modifient la distribution des polluants atmosphériques, tel que l'O₃ et les radicaux OH (Atkinson, 2000). Ainsi, les COVs diminuent la capacité oxydante de l'atmosphère en réagissant avec les radicaux OH, ce qui implique une diminution de la capacité de l'atmosphère à détruire les composés, comme les gaz à effet de serre, qui y entrent. De plus, ils participent à la formation de l'ozone troposphérique (O₃), qui agit comme un gaz à effet de serre, et participent donc indirectement au réchauffement climatique. En outre, l'augmentation des teneurs en ozone troposphérique diminue les rendement des cultures (Ainsworth et al., 2012) et induit une augmentation (+40%) de l'émission de COVs par les plantes (Llusà et al., 2002). Pour finir, les COVs interviennent dans de nombreuses communications, que ce soit à l'échelle de la plante (Kim et al., 2011) comme à celle des bactéries du sol (Schulz and Dickschat, 2007).

Rappelons également que ce travail de thèse par l'étude qualitative du compartiment AIR et de son rôle dans le fonctionnement des écosystèmes s'est intéressé à une préoccupation très récente en comparaison aux efforts de recherche davantage portés sur les matrices environnementales de l'eau et du sol. Cette prise de conscience des échanges air-sol ou air-océan dans l'écologie des flux et des cycles biogéochimiques majeurs est très récente. L'intérêt grandissant de cette interface se reflète dans les programmes interdisciplinaires européens et nationaux et est grandement relayé par les citoyens doublement préoccupés par les impacts sanitaires et les changements climatiques.

5.1.2 Les questions posées

S'il est bien connu à présent que les écosystèmes terrestres sont d'importants émetteurs de gaz carbonés, tels que le CO_2 et le CH_4 , vers l'atmosphère, des auteurs (Bachy et al., 2016) ont récemment suggérés que les sols dans les paysages agricoles sont également à l'origine de l'émission d'autres gaz carbonés dans des proportions non négligeables, les COVs, libérés lors de la dégradation des matières organiques par les microorganismes du sol (Stahl and Parkin, 1996). Mon travail de thèse a ainsi consisté à investiguer cette hypothèse encore peu étudiée, d'émissions biogéniques de COVs par les sols. La complexité du sujet abordé a nécessité la prise en compte de différentes échelles spatiales intégrant à la fois les propriétés biotiques et abiotiques intrinsèques des sols ainsi que leur facteurs de régulation à l'échelle des paysages agricoles et climatiques.

Pour ce faire, les recherches entreprises ont cherché à répondre aux questions suivantes :

1. Quel est l'effet des pratiques culturales et de l'occupation des sols sur les spectres d'émission des COVs (signature) ?
2. Quelle est la dynamique temporelle des émissions de COVs par les sols agricoles ?
3. Quels sont les flux de COVs émis par le sol vers l'atmosphère dans les différents paysages agricoles ?
4. Quel est le lien entre la composante microbienne des sols et les propriétés physico-chimiques du sol dans les mécanismes d'émission ?
5. Quels paramètres pédo-climatiques expliquent les spectres de COVs des sols agricoles ?

5.1.3 Les stratégies mises en œuvre

Pour répondre à l'ensemble de ces questions, il a été nécessaire de réfléchir et de tester des hypothèses en prenant en compte plusieurs échelles d'organisations, allant de l'échelle moléculaire (molécule de COVs, microorganismes) à celle du micro-climat.

Le **premier** acquis de cette thèse est d'ordre technique. Les travaux ont conduit au développement et à la mise au point d'une stratégie d'échantillonnage et d'analyse des COVs émis par les sols. Afin de suivre la dynamique des émissions de COVs sur le terrain, un dispositif d'échantillonnage par prélèvement dynamique dans des canisters a été élaboré en étroite collaboration entre ECOBIO, l'IPR et son atelier de mécanique. Un développement analytique a également été réalisé afin d'optimiser et d'adapter le fonctionnement du PTR-MS, spectromètre de masse dédié à la mesure des COVs, à nos questionnements (sélection des masses d'intérêt, gaz étalon,...). Les développements techniques et analytiques ont pu être validés dans le cadre des échantillonnages de terrain comme au laboratoire au cours de cette thèse.

Cette stratégie d'échantillonnage devait être déployée sur deux sites observatoire, le site

EFELE (labellisé Allenvi) appartenant au réseau SOERE-PRO et le site ZAAR rattaché au réseau des zones atelier et des ILTER (international long term environmental research). Les deux sites représentent un gradient d’anthropisation, avec les sols cultivés selon 4 pratiques de fertilisation différentes pour le site EFELE et des sols de prairies permanentes (prairies drainées et prairies humides). Afin d’aboutir à une meilleure compréhension des mécanismes ayant lieu aux différentes échelles, nous avons couplé les suivis de terrain aux expérimentations en milieu contrôlé, i.e. en laboratoire.

Pour finir, le traitement des données et leur exploitation a nécessité de nombreuses recherches dans les outils statistiques pour permettent l’analyse de jeux de données important (1 à 3 Giga Octet) et décrivant des compartiments spatio-temporels très différents (COVs, microorganismes, caractérisation pédologique et micro-climat). Ainsi, une première approche a eu lieu par l’utilisation de descripteurs comme la richesse spécifique ou encore la diversité par le biais des indices de Shannon et de Bray-curtis. Cette approche est couplée avec une deuxième, plus intégrative des jeux de données dans leur ensemble, que sont les analyses multivariées, telle que la partial least square (PLS).

5.2 Les avancées majeures

5.2.1 Le profil type de COVs émis par les sols

Ce travail de thèse a mis en évidence qu’une quarantaine de masses différentes émises par les sols étudiés sont détectées dans la gamme 21-151 amu ciblée dans cette étude. Si toutes les masses n’ont effectivement pas été identifiées, dix d’entre elles peuvent être clairement assignées aux molécules suivantes : acétonitrile, acétone, méthanol, éthanol, toluène, diméthyle sulfide, propanol, acide acétique, propanenitrile et acide acétique. Ces dix composés font toujours partie des masses qualifiées de majoritaires dont les concentrations sont les plus importantes contribuant au moins à 80% de la concentration totale du spectre. De plus, ce travail a montré que cette richesse est peu variable dans le temps et ne semble pas liée à l’usage des terres ou des pratiques agricoles. Cette faible variation spatio-temporelle conduit au fait que l’échantillonnage de la diversité locale, voir régionale, est rapidement atteinte après seulement une dizaine de prélèvements indépendants. Avec 258 échantillonnages réalisés sur 18 parcelles différentes, nous avons mis en évidence qu’un profil type de COVs émis par les sols était d’une part dominé par 1 à 4 masses et que, d’autre part, une dizaine de masses contribuait pour 80 à 90% de la concentration totale émise. Ce résultat est d’autant plus robuste que ces profils types de COVs sont aussi observés en laboratoire mais sont néanmoins composés d’une cinquantaine de COVs dans ce dernier cas et possèdent par conséquent une richesse plus importante que celle observée sur le terrain. En revanche, les COVs majoritaires restent les mêmes. La différence

de richesse résulte, ainsi, de plus nombreuses masses détectées en faibles concentrations.

5.2.2 Spécificité des spectres de COVs émis par les sols

Nous avons également montré, pour la première fois sur le terrain (Article I), qu'il existait une forte spécificité des spectres de COVs en fonction des usages des terres et des pratiques de fertilisation. Sur la quarantaine de COVs émis par les sols, 27 ont une émission régulée par les pratiques agricoles, dont l'éthanol (masse 47), le toluène (masse 93), le formaldéhyde (masse 31), l'acétonitrile (masse 42) et le diméthyle sulfide (masse 63). Il n'existe cependant aucun COV spécifique d'une pratique agricole ou d'un usage des sols. En effet, c'est l'importance de chacune des masses par rapport aux autres qui permet d'identifier les usages du sol et les pratiques agricoles. Ce travail de thèse a donc aussi posé les bases de l'analyse des COVs émis par les sols, notamment par le fait qu'il est plus pertinent d'étudier la signature spectrale des COVs dans son ensemble et d'en hiérarchiser les masses les unes par rapport aux autres en fonction de leur concentration plutôt que de cibler quelques COVs, tel que cela est privilégié actuellement dans la littérature.

5.2.3 Émissions de COVs par les sols des agrosystèmes (lien avec la gestion des sols)

Ce travail a démontré qu'il existait une forte dépendance temporelle des spectres de COVs quels que soient les usages des sols et les pratiques agricoles. Leurs flux sont compris typiquement entre 22 et 167 $\mu\text{g de COVs h}^{-1} \text{m}^{-2}$. La contribution de chaque COV au spectre total varie également aux cours des deux années de suivi. Ainsi, d'un prélèvement à l'autre un COV peut par exemple représenter plus de 40% du spectre total et ensuite moins de 15%. Le pattern temporel des spectres de COVs n'est pas clairement défini en fonction des saisons, cependant la période hivernale, correspond à celle où les émissions sont systématiquement les plus faibles. En plus de cette temporalité, certaines pratiques agricoles induisent des flushs de méthanol. Un pic d'émission de méthanol par les sols a été d'une part observé après un apport de lisier de porc au sol. D'autre part, nous avons observé (résultat non inclus dans ce manuscrit) que la fertilisation avec de l'azote minéral (engrais azoté) entraînait aussi un flush de méthanol, que ce soit dans les parcelles cultivées que dans les prairies drainées.

5.2.4 Le rôle des microorganismes dans la production de COVs

Dans cette étude, nous avons montré que la diversité phylogénique au sein des communautés microbiennes du sol n'est pas reflétée dans les spectres de COVs émis par les sols. En effet, les résultats obtenus suggèrent que la signature spectrale dépend davantage de l'activité microbienne. Ce constat tend à soutenir l'idée selon laquelle les COVs pourraient

être un proxy de l'activité métabolique des microorganismes émetteurs, ce qui en ferait donc une analyse complémentaire aux mesures d'émission de CO₂ qui renseigne sur l'activité globale des microorganismes. Ce résultat est cependant à nuancer dans la mesure où la diversité des champignons et archées actifs relatifs à nos échantillonnages n'a pas encore été analysés, mais le sera dans un futur proche.

5.2.5 Relations Matières organiques des sols-COVs

Les relations entre la composition moléculaire de la matière organique du sol et les émissions de COVs n'ont pas pu être abordées au cours de cette thèse, comme souhaité faute de temps. Néanmoins, nous avons validé que le suivi de la matière organique dissoute, approchée par la WEOM (Water Extractible Organic Matter), est pertinent pour comprendre, voir prédire, les émissions de COVs par les sols. Nous avons ainsi montré que le ratio C/N de cette fraction des MOS était un facteur important dans la régulation des spectres de COVs émis par les sols.

Dans le cas des expérimentations avec des apports de différents types de molécule organique (acétate, cellulose et lignine), la différence de protocole empêche de conclure de façon robuste. Les résultats suggèrent, néanmoins, que les molécules accessibles à la biodégradation microbienne induisent une augmentation ou une diminution des émissions de certains COVs. Ces modifications surviennent de quelques heures suivant l'apport à quelques jours pour respectivement l'acétate et les molécules polymérisées (cellulose ou lignine). De plus l'ensemble de ces expérimentations ajoutent un argument supplémentaire quant au lien entre les voies métaboliques microbiennes actives et les spectres de COVs émis.

5.3 Les perspectives et limites

5.3.1 Succession écologique

Les résultats suggèrent que le suivi des émissions de COVs émis lors de la dégradation des matières organiques du sol permettrait d'appréhender des métabolismes spécifiques non détectables par des mesures de CO₂. Par exemple, il serait possible de suivre la dégradation de certaines molécules, telle que la cellulose ou encore un pesticide donné, en mesurant les émissions de quelques COVs cibles. De plus, le suivi des émissions de COVs par les sols permettrait une meilleure compréhension fondamentale des écosystèmes éda-
phiques. En effet, si les COVs émis par les sols s'avèrent être induits par l'activité métabolique des microorganismes, alors il sera possible de suivre la succession écologique des microorganismes dans différents processus, comme la dégradation d'une matière organique. Or, il est difficile et coûteux aujourd'hui de faire ce genre de suivi. Néanmoins des études supplémentaires sur les liens entre l'activité métabolique des microorganismes

et les COVs émis sont nécessaires pour aller plus loin. Une possibilité consisterait à identifier les voies métaboliques impliquées dans la production du spectre de COVs par des expérimentations utilisant des matières organiques ou des ressources trophiques marquées avec un traceur tel que le carbone 13.

5.3.2 Volatilomiques

Les travaux réalisés aux cours de ces trois ans ont permis de montrer que la volatilomique, qui étudie les microorganismes par le biais des spectres de COVs qu'ils émettent, est applicable aux environnements complexes tels que les sols. En effet, plusieurs travaux avaient montré qu'il était possible de relier la présence de microorganismes à celle de certains COVs durant le processus de compostage (Smet et al., 1999) ou dans des conditions de croissance de boîte de pétri (Müller et al., 2013), mais aucun ne l'avait fait directement à partir d'échantillons de sol. Pour autant, le travail effectué ici montre qu'il n'est pas possible de détecter la diversité phylogénétique des microorganismes dans les sols. Cette absence de lien entre la diversité phylogénétique et la diversité des spectres de COVs est en accord avec différents travaux réalisés dans des milieux de culture (Müller et al., 2013; Bunge et al., 2008). Ce constat suggère 1) une redondance de l'activité entre les microorganismes pour une majorité de voies métaboliques (notion de core metabolome) ou 2) la spécificité entre certains COVs et certains microorganismes n'est pas décelable, par nos techniques, car les COVs émis ne sont pas équivalents aux COVs produits (consommation et/ou adsorption).

Les applications d'une telle technique sont nombreuses, mais la principale est liée à la possibilité de faire des suivis de communautés microbiennes du sol de manière non destructive. Cela en fait donc une technique complémentaire aux outils -omiques "classiques". Cette caractéristique en fait donc un outil très prometteur pour le futur de la recherche en microbiologie des sols.

5.3.3 Les COVs et les nouvelles pratiques de gestion des sols

Dans un contexte de transition écologique, il est important de proposer des solutions alternatives qui soient réellement viables pour les écosystèmes. La méthanisation des effluents d'élevage est une des techniques proposées actuellement pour réduire l'impact écologique de l'élevage. La méthanisation a l'avantage de produire d'une part de l'énergie lors de la combustion du méthane produit et d'autre part de la matière organique dont le retour au sol est fortement envisagé (Bastide, 2015). D'un point de vue des flux carbonés liées aux COVs, l'apport aux sols du digestat liée à la méthanisation des lisiers de porc semble effectivement une bonne alternative car elle permet de réduire ces émissions à des niveaux comparables à ceux des sols non amendés sans apports.

Néanmoins, il est nécessaire de considérer l'effet de l'apport de digestat sur les rendements de culture, notamment dans un contexte où il faut nourrir une population humaine grandissante. De plus, nous avons démontré que les spectres de COVs étaient spécifiques aux pratiques de fertilisation. De fait, même si le flux carboné lié aux COVs est moindre dans le cas d'un apport de digestat, nous n'avons pas quantifié l'impact total de la réactivité atmosphérique du spectre (modification de la chimie de l'atmosphère et des boucles de rétroaction que cela induit) émis par les sols avec un apport de digestat par rapport à ceux émis par les sols sans apport.

Dans le même temps, il est aussi nécessaire de prendre en compte la rétroaction des COVs et de l'ozone sur le fonctionnement des écosystèmes. En effet plusieurs études montrent qu'une augmentation de la concentration atmosphérique en ozone diminue les rendements des cultures (Ainsworth et al., 2012) et modifie le spectre de COVs émis par les plantes (Llusià et al., 2002).

Il semble exister un lien fort entre la forme d'azote apportée aux sols pour leur fertilisation et l'émission de COVs, notamment celle de méthanol. En effet, l'azote apporté sous forme de digestat de lisier de porc n'influence pas l'émission de C-COVs, contrairement à l'apport de lisier de porc et la fertilisation à l'azote minéral. Partant de ces informations, il serait intéressant de quantifier l'effet d'un autre type d'apport d'azote au sol et lié à l'enfouissement des cultures intermédiaires pièges à nitrate (CIPAN) sur le spectre de COVs émis par les sols. De même, alors que ce travail de thèse a montré que l'apport d'une molécule organique, telle que la cellulose, induit une augmentation de l'émission de certains COVs, telle que la masse 73 (2-butanone), il serait intéressant de déterminer l'impact de la couverture du sol par un mulch (débris végétal), qui correspond à un apport de matières organiques, souvent riches en cellulose et lignine. De nos jours, ces pratiques agricoles sont largement encouragées mais leur impact en termes d'émission de COVs reste encore mal connu.

5.3.4 Les COVs et les cycles biogéochimiques

Dans les écosystèmes pauvres en carbone, les COVs permettent la régulation des populations de basidiomycètes (Gramss and Bergmann, 2008). Pourtant d'après les valeurs de flux observées dans nos études, il paraît peu probable que le flux carboné soit suffisant pour soutenir et réguler une activité fongique.

Il existerait donc un flux de carbone liés aux COVs qui transite entre les microorganismes plus important que celui émis et que nous détectons par le biais de nos mesures. Les COVs produit par un microorganisme auraient, ainsi, plus de chances d'être assimilés par un autre que d'être émis vers l'atmosphère. La question de l'existence d'un flux de COVs qui transite entre les microorganismes liée à la production-consommation microbienne ce

pose donc. En effet, dans le cadre de notre étude, nous avons injecté un air ultra pur dans la chambre de prélèvement, ce qui nous permet de mesurer tous les COVs qui n'ont pas été consommés par les microorganismes ou adsorbés par le sol. Ainsi, nous mesurons un flux d'émission et il est impossible de quantifier le flux de matière qui transite dans la biomasse microbienne. Une manière de répondre à cette question serait d'utiliser, dans le cadre d'une incubation en conditions contrôlées un gaz, comme le méthanol, marqué au ^{13}C et de l'injecter en flux continu dans le sol pendant plusieurs jours. Par la suite, la quantification du carbone marqué dans la biomasse microbienne permettrait de quantifier ce flux de matière.

Quelles que soient les réponses à ces questions, ces travaux de thèse permettent de suggérer qu'il ne faut pas concevoir les COVs uniquement par leurs flux de C mais étudier les COVs, c'est aussi s'intéresser aux cycles biogéochimiques des éléments majeurs (azote, soufre) couplés au cycle du Carbone.

5.3.5 Les éléments paysagers puits/sources

Il a été montré que les sols pouvaient se comporter en tant que puits ou source de COVs en fonction des conditions climatiques (Bachy et al., 2016; Aaltonen et al., 2013). Néanmoins, les mécanismes qui induisent ce comportement puits/source du sol sont encore très fragmentés et surtout issus de données de laboratoire.

Le sol a la capacité de stocker les COVs par le biais de mécanismes biologiques et physico-chimiques. En effet, les microorganismes peuvent dégrader les COVs (Kleinheinz et al., 1999) et donc induire un phénomène de stockage dans la biomasse microbienne. De plus on sait que les sols ont la capacité de stocker les COVs par des mécanismes d'adsorption sur la surface minérale. Par exemple, Asensio et al. (2008) ont montré que le sol avait une capacité de sorption de l'acétonitrile, du méthanol et de l'acétone.

Les émissions de COVs par les sols semblent principalement liées à la production microbienne et peu aux mécanismes abiotiques de désorption. En effet, Gray et al. (2010) ont montré en laboratoire que des litières végétales stérilisées et incubées en conditions de décomposition émettent des flux de COVs jusqu'à 11 fois moins importants que les mêmes litières non stérilisées. De plus nos résultats obtenus en conditions contrôlées (Voir chapitre 4) montrent que les sols stériles ne produisent pas de COVs, dans la limite de détection de notre appareil, soit 0.5 ppbV. Néanmoins, ces deux études ne prennent pas en compte les variations climatiques qui semblent être le moteur de l'émission abiotique des COVs. En effet, une fois adsorbés dans le sol les COVs peuvent être désorbés en fonction des conditions environnementales. L'augmentation de l'humidité du sol induit par exemple la sorption du méthanol et la désorption des hydrocarbures (Morozov et al., 2014).

En plus des phénomènes qui viennent d'être décrits, il existe une corrélation entre la

structure (et donc la porosité) du sol et des phénomènes indirects de stockage et/ou d'émission des gaz par les sols. Effectivement, les mouvements de COVs dans les sols sont gouvernés par le coefficient de diffusion des gaz D_p ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$) de la loi de Fick (Peñuelas et al., 2014). Et on sait qu'une diminution de la diffusivité des gaz entraîne des phénomènes de stockage et que l'inverse augmente les émissions des gaz par les sols (Moldrup et al., 2000; Rolston and Moldrup, 2012)

Dans l'état des connaissances actuelles, il est donc impossible de savoir si ce sont des facteurs abiotiques ou biotiques qui régulent principalement le statut puits/source des sols et/ou l'alternance de ce comportement

Ainsi, le comportement puits/source pourrait être lié, de manière non exclusive, à des éléments paysagers ou aux variations des conditions climatiques. Dans le premier cas, il serait intéressant de les identifier pour comprendre quels sont les mécanismes qui permettent à un élément du paysage qu'il soit un puits ou une source de COVs. Dans le deuxième cas, identifier les conditions climatiques permettrait de proposer des périodes d'échantillonnage propices à la mesure des COVs en fonction des objectifs de l'étude.

Pour finir, l'étude des comportements puits/sources des sols nécessite de réaliser des monitorings en continu sur plusieurs semaines, pour d'une part échantillonner toute la variabilité du spectre, et d'autre part prendre en compte les variations liées à l'émission de nuit. Dans le cadre de ma thèse, il n'a pas été possible de faire d'échantillonnage durant la nuit, mais d'après les travaux de Schade and Custer (2004), il est fort probable de trouver un comportement d'émission différent en fonction du type de COVs.

5.3.6 Les questions émergentes suite à ces travaux

Suite à ces travaux de thèse et aux nouvelles connaissances apportées, de nouvelles questions émergent. Ainsi, dans le cadre d'une échelle spatio-temporelle fine traitant des processus moléculaires on peut s'interroger sur la part relative de chacun des règnes microbiens dans l'émission d'un spectre de COVs.

En élargissant l'échelle spatio-temporelle et en s'intéressant aux relations entre les spectres de COVs émis et les usages des terres en agriculture, les questions sans réponse dans la littérature sont :

- Quels sont les éléments du paysage agricoles qui peuvent être considérés comme puits ou source de COVs ?
- Est-ce que le caractère puits/source d'un élément paysager est fonction des facteurs biologiques intrinsèques ou de facteurs abiotiques qu'il subit ?

Enfin, en prenant en compte l'échelle la plus large étudiée dans ce projet, portant sur les relations entre les émissions de COVs et les changements globaux, plusieurs questions

émergent, telles que :

- Quelle est la contribution des COVs émis par les sols agricoles sur la qualité de l'air ?
- Dans quelles mesures les COVs émis par les sols agricoles peuvent impacter le fonctionnement des écosystèmes et la santé humaine ?

Bibliographie

- Aaltonen, H., Aalto, J., Kolari, P., Pihlatie, M., Pumpanen, J., Kulmala, M., Nikinmaa, E., Vesala, T., and Bäck, J. (2013). Continuous VOC flux measurements on boreal forest floor. *Plant and Soil*, 369(1-2) :241–256.
- Acea, M. and Carballas, T. (1988). Effects of Cattle-Slurry Treatment on the Microorganisms of the Carbon-and Sulphur-Cycles in the Soil. *Biological Wastes*, 24(4) :251 – 258.
- ADEME, MEDDE, and INRA (2014). Agriculture et pollution de l’air - Impact, Contributions, Perspectives : Etat de l’art des connaissances. PRIMEQUAL.
- Aho, K. A. (2016). asbio : A Collection of Statistical Tools for Biologists. R package version 1.3-1. pages 0–221.
- Ahring, B., Licht, D., Schimdt, A., Sommer, P., and Thomsen, A. (1999). Production of ethanol from wet oxidised wheat straw by *Thermoanaerobacter mathranii*. *Biore-source Technology*, 68 :3–9.
- Ainsworth, E. A. (2008). Rice production in a changing climate : a meta-analysis of responses to elevated carbon dioxide and elevated ozone concentration. *Global Change Biology*, 14(7) :1642–1650.
- Ainsworth, E. A., Yendrek, C. R., Sitch, S., Collins, W. J., and Emberson, L. D. (2012). The Effects of Tropospheric Ozone on Net Primary Productivity and Implications for Climate Change. *Annual Review of Plant Biology*, 63(1) :637–661.
- Alvarez, R. and Steinbach, H. (2009). A review of the effects of tillage systems on some soil physical properties, water content, nitrate availability and crops yield in the Argentine Pampas. *Soil and Tillage Research*, 104(1) :1–15.
- An, J., Zhu, B., Wang, H., Li, Y., Lin, X., and Yang, H. (2014). Characteristics and source apportionment of VOCs measured in an industrial area of Nanjing, Yangtze River Delta, China. *Atmospheric Environment*, 97 :206–214.
- Arey, J., Winer, A. M., Atkinson, R., Aschmann, S. M., Long, W. D., and Morrison, C. L. (1991). The emission of (Z)-3-Hexen-1-ol (Z)-3-Hexenylacetate and other oxygenated hydrocarbons from agricultural plant species. *Atmospheric Environment*, 25A(5/6) :1063–1075.

- Armstrong, F. A. J., Stearns, C. R., and Strickland, J. D. H. (1967). The measurement of upwelling and subsequent biological process by means of the Technicon Autoanalyzer® and associated equipment. In *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts*, volume 14, pages 381–389. Elsevier.
- Arneth, A., Monson, R. K., Schurgers, G., Niinemets, ., and Palmer, P. I. (2008). Why are estimates of global terrestrial isoprene emissions so similar (and why is this not so for monoterpenes)? *Atmospheric Chemistry and Physics*, 8(16) :4605–4620.
- Asensio, D., Penuelas, J., Ogaya, R., and Llusia, J. (2007a). Seasonal soil and leaf CO₂ exchange rates in a Mediterranean holm oak forest and their responses to drought conditions. *Atmospheric Environment*, 41(11) :2447–2455.
- Asensio, D., Peñuelas, J., Llusia, J., Ogaya, R., and Filella, I. (2007b). Interannual and interseasonal soil CO₂ efflux and VOC exchange rates in a Mediterranean holm oak forest in response to experimental drought. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(10) :2471–2484.
- Asensio, D., Peñuelas, J., Prieto, P., Estiarte, M., Filella, I., and Llusia, J. (2008). Interannual and seasonal changes in the soil exchange rates of monoterpenes and other VOCs in a Mediterranean shrubland. *European Journal of Soil Science*, 59(5) :878–891.
- Asensio, D., Yuste, J. C., Mattana, S., Ribas, n., Llusia, J., and Peñuelas, J. (2012). Litter VOCs induce changes in soil microbial biomass C and N and largely increase soil CO₂ efflux. *Plant and Soil*, 360(1-2) :163–174.
- Ashmore, M. R. (2005). Assessing the future global impacts of ozone on vegetation. *Plant, Cell & Environment*, 28(8) :949–964.
- Atkinson, R. (2000). Atmospheric chemistry of VOCs and NO_x. *Atmospheric Environment*, 34 :2063–2101.
- Atkinson, R. and Arey, J. (2003a). Atmospheric Degradation of Volatile Organic Compounds. *Chemical Reviews*, 103(12) :4605–4638.
- Atkinson, R. and Arey, J. (2003b). Gas-phase tropospheric chemistry of biogenic volatile organic compounds : a review. *Atmospheric Environment*, 37 :197–219.
- Auer, L., Escudie, F., Cauquil, L., Vidal, K., Maman, S., Mariadassou, M., Hernandez-Raquet, G., and Pascal, G. (2016). FROGS : Find Rapidly OTUs with Galaxy Solution.
- Avnery, S., Mauzerall, D. L., Liu, J., and Horowitz, L. W. (2011). Global crop yield reductions due to surface ozone exposure : 1. Year 2000 crop production losses and economic damage. *Atmospheric Environment*, 45(13) :2284–2296.
- Bachy, A., Aubinet, M., Schoon, N., Amelynck, C., Bodson, B., Moureaux, C., and Heinesch, B. (2016). Are BVOC exchanges in agricultural ecosystems overestimated?

- Insights from fluxes measured in a maize field over a whole growing season. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 16(8) :5343–5356.
- Bailey, V. L., Smith, J. L., and Bolton, H. (2002). Fungal-to-bacterial ratios in soils investigated for enhanced C sequestration. *Soil Biology and Biochemistry*, 34(7) :997–1007.
- Balesdent, J., Chenu, C., and Balabane, M. (2000). Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. *Soil and tillage research*, 53(3) :215–230.
- Bange, H. W. and Williams, J. (2000). New directions : Acetonitrile in atmospheric and biogeochemical cycles. *Atmospheric Environment*, 34(28) :4959–4960.
- Barletta, B., Meinardi, S., Sherwood Rowland, F., Chan, C.-Y., Wang, X., Zou, S., Yin Chan, L., and Blake, D. R. (2005). Volatile organic compounds in 43 Chinese cities. *Atmospheric Environment*, 39(32) :5979–5990.
- Barnard, R., Leadley, P. W., and Hungate, B. A. (2005). Global change, nitrification, and denitrification : A review : GLOBAL CHANGE, NITRIFICATION, AND DENITRIFICATION. *Global Biogeochemical Cycles*, 19(1).
- Barton, K. (2016). MuMIn : Multi-Model Inference. *R package version 1.15.6*.
- Bastide, G. (2015). Méthanisation. Fiche technique 1.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., and Walker, S. (2014). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *arXiv preprint arXiv :1406.5823*.
- Beare, M. H. (1997). Fungal and bacterial pathways of organic matter decomposition and nitrogen mineralization in arable soils. In *Soil Ecology in Sustainable Agricultural Systems.*, pages 37 – 70. Brussaard, L., Ferrera-Cerrato, R., Boca Raton, FL, lewis publishers edition.
- Bell, M. L., McDermott, A., Zeger, S. L., Samet, J. M., and Dominici, F. (2004). Ozone and Short-term Mortality in 95 US Urban Communities, 1987-2000. *JAMA*, 292(19) :2372.
- Bending, G. D. and Lincoln, S. D. (1999). Characterisation of volatile sulphur-containing compounds produced during decomposition of *Brassica juncea* tissues in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 31(5) :695–703.
- Bending, G. D. and Lincoln, S. D. (2000). Inhibition of soil nitrifying bacteria communities and their activities by glucosinolate hydrolysis products. *Soil Biology and Biochemistry*, 32 :1261–1269.
- Berhanu, T. A., Savarino, J., Bhattacharya, S. K., and Vicars, W. C. (2012). O^{17} excess transfer during the $\text{NO}_2 + \text{O}_3 \rightarrow \text{NO}_3 + \text{O}_2$ reaction. *The Journal of Chemical Physics*, 136(4) :044311.
- Blackburn, T. M. and Gaston, K. J. (2003). *Macroecology : Concepts and Consequences*. Blackwell Science, Oxford. Google-Books-ID : 3vUUii37DEQC.

- Blom, D., Fabbri, C., Connor, E. C., Schiestl, F. P., Klauser, D. R., Boller, T., Eberl, L., and Weiskopf, L. (2011). Production of plant growth modulating volatiles is widespread among rhizosphere bacteria and strongly depends on culture conditions : Volatile-mediated impact of bacteria on *Arabidopsis thaliana*. *Environmental Microbiology*, 13(11) :3047–3058.
- Bokulich, N. A., Subramanian, S., Faith, J. J., Gevers, D., Gordon, J. I., Knight, R., Mills, D. A., and Caporaso, J. G. (2012). Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing. *Nature Methods*, 10(1) :57–59.
- Bosatta, E. and Ågren, G. I. (1999). Soil organic matter quality interpreted thermodynamically. *Soil Biology and Biochemistry*, 31 :1889 – 1891.
- Brennan, E. B. and Acosta-Martinez, V. (2017). Cover cropping frequency is the main driver of soil microbial changes during six years of organic vegetable production. *Soil Biology and Biochemistry*, 109 :188–204.
- Breus, I. P., Mishchenko, A. A., Shinkarev, A. A., Neklyudov, S. A., and Breus, V. A. (2014). Effect of organic matter on the sorption activity of heavy loamy soils for volatile organic compounds under low moisture conditions. *Eurasian Soil Science*, 47(12) :1216–1226.
- Bruce, A., Stewart, D., Verrall, S., and Wheatley, R. E. (2003). Effect of volatiles from bacteria and yeast on the growth and pigmentation of sapstain fungi. *International biodeterioration & biodegradation*, 51(2) :101–108.
- Bruce, A., Verrall, S., Hackett, C., and Weathley, R. E. (2004). Identification of volatile organic compounds (VOCs) from bacteria and yeast causing growth inhibition of sapstain fungi. *Holzforschung*, 58 :193–198.
- Bååth, E. and Anderson, T.-H. (2003). Comparison of soil fungal/bacterial ratios in a pH gradient using physiological and PLFA-based techniques. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(7) :955–963.
- Bunge, M., Araghipour, N., Mikoviny, T., Dunkl, J., Schnitzhofer, R., Hansel, A., Schinner, F., Wisthaler, A., Margesin, R., and Mark, T. D. (2008). On-Line Monitoring of Microbial Volatile Metabolites by Proton Transfer Reaction-Mass Spectrometry. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(7) :2179–2186.
- Buttery, R. G., Xu, C., and Ling, L. C. (1985). Volatile components of wheat leaves (and stems) : possible insect attractants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33(1) :115–117.
- Calfapietra, C., Fares, S., and Loreto, F. (2009). Volatile organic compounds from Italian vegetation and their interaction with ozone. *Environmental Pollution*, 157(5) :1478–1486.

- Camacho, C., Coulouris, G., Avagyan, V., Ma, N., Papadopoulos, J., Bealer, K., and Madden, T. L. (2009). BLAST+ : architecture and applications. *BMC Bioinformatics*, 10(1) :421.
- Camredon, M. and Aumont, B. (2007). L'ozone troposphérique : production/consommation et régimes chimiques. *Pollution atmosphérique*, 193 :51–60.
- Cardoza, Y. J., Teal, P. E. A., and Tumlinson, J. H. (2003). Effect of Peanut Plant Fungal Infection on Oviposition Preference by *Spodoptera exigua* and on Host-Searching Behavior by *Cotesia marginiventris*. *Environmental Entomology*, 32(5) :970–976.
- Challinor, A. J., Watson, J., Lobell, D. B., Howden, S. M., Smith, D. R., and Chhetri, N. (2014). A meta-analysis of crop yield under climate change and adaptation. *Nature Climate Change*, 4(4) :287–291.
- Chameides, W. L., Lindsay, R. W., Richardson, J., and Kiang, C. S. (1988). The role of biogenic hydrocarbons in urban photochemical smog : Atlanta as a case study. *Science(Washington)*, 241(4872) :1473–1475.
- Chantigny, M. H. (2003). Dissolved and water-extractable organic matter in soils : a review on the influence of land use and management practices. *Geoderma*, 113(3-4) :357–380.
- Chen, Y., Xu, Z., Hu, H., Hu, Y., Hao, Z., Jiang, Y., and Chen, B. (2013). Responses of ammonia-oxidizing bacteria and archaea to nitrogen fertilization and precipitation increment in a typical temperate steppe in Inner Mongolia. *Applied Soil Ecology*, 68(Supplement C) :36–45.
- Chester, R. (1990). *Marine Geochemistry*, volume 1. Schulz, Horst D., Zabel, Matthias, London, unwin hyman ltd edition.
- Ciais, P., Sabine, C., Bala, G., Bopp, L., Brovkin, V., Canadell, J., Chhabra, A., DeFries, R., Galloway, J., and Heimann, M. (2014). Carbon and other biogeochemical cycles. In *Climate change 2013 : the physical science basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, pages 465–570. Cambridge University Press.
- Clay, D. E., Malzer, G. L., and Anderson, J. L. (1990). Ammonia Volatilization from Urea as Influenced by Soil Temperature, Soil Water Content, and Nitrification and Hydrolysis Inhibitors. *Soil Science Society of America Journal*, 54(1) :263–266.
- D'Alessandro, M., Erb, M., Ton, J., Brandenburg, A., Karlen, D., Zopfi, J., and Turlings, T. C. J. (2014). Volatiles produced by soil-borne endophytic bacteria increase plant pathogen resistance and affect tritrophic interactions : Bacterial volatiles and multitrophic interactions. *Plant, Cell & Environment*, 37(4) :813–826.
- Davidson, C. I., Phalen, R. F., and Solomon, P. A. (2005). Airborne Particulate Matter and Human Health : A Review. *Aerosol Science and Technology*, 39(8) :737–749.

- Davidson, E. A. and Janssens, I. A. (2006). Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature*, 440(7081) :165–173.
- de Gouw, J. A. (2003). Emission sources and ocean uptake of acetonitrile (CH₃cn) in the atmosphere. *Journal of Geophysical Research*, 108(D11).
- de Laat, A. T. J., de Gouw, J. A., and Lelieveld, J. (2001). Model analysis of trace gas measurements and pollution impact during INDOEX. *Journal of Geophysical Research*, 106(D22) :28,469–28,480.
- de Vries, F. T., Hoffland, E., van Eekeren, N., Brussaard, L., and Bloem, J. (2006). Fungal / bacterial ratios in grasslands with contrasting nitrogen management. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(8) :2092–2103.
- Denman, K. L., Brasseur, G., Chidthaisong, A., Ciais, P., Cox, P., Dickinson, R., Hauglustaine, D., Heinze, C., Holland, E., Jacob, D., Lohmann, U., Ramachandran, S., Leite da Silva Diaz, P., Wofsy, S., and Zhang, X. (2007). Couplings Between Changes in the Climate System and Biogeochemistry. In *Climate Change 2007 : The Physical Science Basis, Couplings Between Changes in the Climate System and Biogeochemistry*, pages 499–587. 1.
- Di, H. J., Cameron, K. C., Shen, J. P., Winefield, C. S., O’Callaghan, M., Bowatte, S., and He, J. Z. (2009). Nitrification driven by bacteria and not archaea in nitrogen-rich grassland soils. *Nature Geosci*, 2(9) :621–624.
- Di, H. J., Cameron, K. C., Shen, J.-P., Winefield, C. S., O’Callaghan, M., Bowatte, S., and He, J.-Z. (2010). Ammonia-oxidizing bacteria and archaea grow under contrasting soil nitrogen conditions : Ammonia-oxidizing bacteria and archaea. *FEMS Microbiology Ecology*, 72(3) :386–394.
- Dicke, M. and Baldwin, I. T. (2010). The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles : beyond the ‘cry for help’. *Trends in Plant Science*, 15(3) :167–175.
- Dickschat, J. S., Martens, T., Brinkhoff, T., Simon, M., and Schulz, S. (2005). Volatiles released by a *Streptomyces* species isolated from the North Sea. *Chemistry & biodiversity*, 2(7) :837–865.
- Dray, S. and Dufour, A.-B. (2007). The ade4 package : implementing the duality diagram for ecologists. *Journal of statistical software*, 22(4) :1–20.
- Effmert, U., Kalderás, J., Warnke, R., and Piechulla, B. (2012). Volatile Mediated Interactions Between Bacteria and Fungi in the Soil. *Journal of Chemical Ecology*, 38(6) :665–703.
- Ellis, A. M. and Mayhew, C. A. (2014). *Proton transfer reaction mass spectrometry : principles and applications*. John Wiley & Sons, Inc, Chichester, West Sussex.
- Embacher, A., Zsolnay, A., Gatteringer, A., and Munch, J. (2007). The dynamics of water extractable organic matter (WEOM) in common arable topsoils : I. Quantity, quality and function over a three year period. *Geoderma*, 139(1-2) :11–22.

- Enwall, K., Nyberg, K., Bertilsson, S., Cederlund, H., Stenström, J., and Hallin, S. (2007). Long-term impact of fertilization on activity and composition of bacterial communities and metabolic guilds in agricultural soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(1) :106–115.
- Escudie, F., Auer, L., Bernard, M., Cauquil, L., Vidal, K., Maman, S., Mariadassou, M., Hernadez-Raquet, G., and Pascal, G. (2015). FROGS : Find Rapidly OTU with Galaxy Solution.
- Faiola, C. L., VanderSchelden, G. S., Wen, M., Elloy, F. C., Cobos, D. R., Watts, R. J., Jobson, B. T., and VanReken, T. M. (2014). SOA Formation Potential of Emissions from Soil and Leaf Litter. *Environmental Science & Technology*, 48(2) :938–946.
- Falik, O., Mordoch, Y., Quansah, L., Fait, A., and Novoplansky, A. (2011). Rumor Has It... : Relay Communication of Stress Cues in Plants. *PLoS ONE*, 6(11) :e23625.
- Faubert, P., Tiiva, P., Michelsen, A., Rinnan, s., Ro-Poulsen, H., and Rinnan, R. (2012). The shift in plant species composition in a subarctic mountain birch forest floor due to climate change would modify the biogenic volatile organic compound emission profile. *Plant and Soil*, 352(1-2) :199–215.
- Faubert, P., Tiiva, P., Rinnan, s., Michelsen, A., Holopainen, J. K., and Rinnan, R. (2010). Doubled volatile organic compound emissions from subarctic tundra under simulated climate warming. *New Phytologist*, 187(1) :199–208.
- Fenical, W. (1982). Natural Products Chemistry in the Marine Environment. *Science*, 215(4535) :923–928.
- Fenn, L. B. and Kissel, D. E. (1973). Ammonia Volatilization from Surface Applications of Ammonium Compounds on Calcareous Soils : I. General Theory. *Soil Science Society of America Journal*, 37(6) :855–859.
- Fernando, W. D., Ramarathnam, R., Krishnamoorthy, A. S., and Savchuk, S. C. (2005). Identification and use of potential bacterial organic antifungal volatiles in biocontrol. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(5) :955–964.
- Ferris, H. and Tuomisto, H. (2015). Unearthing the role of biological diversity in soil health. *Soil Biology and Biochemistry*, 85 :101–109.
- Finlayson-Pitts, B. and Pitts, J. (1993). Atmospheric Chemistry of Tropospheric Ozone Formation : Scientific and Regulatory Implications. *Air & Waste*, 43(8) :1091–1100.
- Finlayson-Pitts, B. J. and Pitts, J. N. J. (1986). Atmospheric chemistry. Fundamentals and experimental techniques.
- Fontaine, S., Mariotti, A., and Abbadie, L. (2003). The priming effect of organic matter : a question of microbial competition ? *Soil Biology and Biochemistry*, 35(6) :837–843.

- Frey, S. D., Elliott, E. T., and Paustian, K. (1999). Bacterial and fungal abundance and biomass in conventional and no-tillage agroecosystems along two climatic gradients. *Soil Biology and Biochemistry*, 31(4) :573–585.
- Frimmersdorf, E., Horatzek, S., Pelnikevich, A., Wiehlmann, L., and Schomburg, D. (2010). How *Pseudomonas aeruginosa* adapts to various environments : a metabolomic approach. *Environmental Microbiology*, 12(6) :1734–1747.
- Fuentes, J. D., Gu, L., Lerdau, M., Atkinson, R., Baldocchi, D., Bottenheim, J. W., Ciccioli, P., Lamb, B., Geron, C., Guenther, A., Sharkey, T. D., and Stockwell, W. (2000). Biogenic Hydrocarbons in the Atmospheric Boundary Layer : A Review. *Bulletin of the American Meteorological Society*, 81(7) :1537–1575.
- Fukui, Y. and Doskey, P. V. (1998). Air-surface exchange of nonmethan organic compounds at a grassland site : Seasonal variations and stressed emissions. *Journal of Geophysical Research*, 103(D11) :153–168.
- Galbally, I. E. and Kirstine, W. (2002). The production of methanol by flowering plants and the global cycle of methanol. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 43(3) :195–229.
- Garbeva, P., van Veen, J., and van Elsas, J. (2004). MICROBIAL DIVERSITY IN SOIL : Selection of Microbial Populations by Plant and Soil Type and Implications for Disease Suppressiveness. *Annual Review of Phytopathology*, 42(1) :243–270.
- Gaston, K. J. (2000). Global patterns in biodiversity. *Nature*, 405(6783) :220.
- Gerzabek, M. H., Pichlmayer, F., Kirchmann, H., and Haberhauer, G. (1997). The response of soil organic matter to manure amendments in a long-term experiment at Ultuna, Sweden. *European Journal of Soil Science*, 48(2) :273–282.
- Girvan, M. S., Bullimore, J., Ball, A. S., Pretty, J. N., and Osborn, A. M. (2004). Responses of Active Bacterial and Fungal Communities in Soils under Winter Wheat to Different Fertilizer and Pesticide Regimens. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(5) :2692–2701.
- Giusti, L. (2009). A review of waste management practices and their impact on human health. *Waste Management*, 29(8) :2227–2239.
- Gramss, G. and Bergmann, H. (2008). Role of Plants in the Vegetative and Reproductive Growth of Saprobic Basidiomycetous Ground Fungi. *Microbial Ecology*, 56(4) :660–670.
- Gray, C. M. and Fierer, N. (2012). Impacts of nitrogen fertilization on volatile organic compound emissions from decomposing plant litter. *Global Change Biology*, 18(2) :739–748.
- Gray, C. M., Monson, R. K., and Fierer, N. (2010). Emissions of volatile organic compounds during the decomposition of plant litter. *Journal of Geophysical Research*, 115(G3).

- Gribble, G. W. (2000). The Natural Production of Organobromine Compounds. *Environmental Science and Pollution Research*, 7(1) :37–49.
- Griffin, R. J., Cocker III, D. R., Flagan, R. C., and Seinfeld, J. H. (1999a). Organic aerosol formation from the oxidation of biogenic hydrocarbons. *Journal of Geophysical Research*, 104(D3) :3555–3567.
- Griffin, R. J., Cocker III, D. R., Seinfeld, J. H., and Dabdub, D. (1999b). Estimate of global atmospheric organic aerosol from oxidation of biogenic hydrocarbons. *Geophysical Research Letters*, 26(17) :2721–2724.
- Guenther, A., Hewitt, C. N., Erickson, D., Fall, R., Geron, C., Graedel, T., Harley, P., Klinger, L., Lerdau, M., McKay, W. A., Pierce, T., Scholes, B., Steinbrecher, R., Tallamraju, R., Taylor, J., and Zimmerman, P. (1995). A global model of natural volatile organic compound emission. *Journal of Geophysical Research*, 100(5) :8873–8892.
- Harley, P. C., Monson, R. K., and Lerdau, M. T. (1999). Ecological and evolutionary aspects of isoprene emission from plants. *Oecologia*, 118(2) :109–123.
- Hartig, F. (2017). Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models. *R package*.
- Hayes, F., Jones, M., Mills, G., and Ashmore, M. (2007). Meta-analysis of the relative sensitivity of semi-natural vegetation species to ozone. *Environmental Pollution*, 146(3) :754–762.
- Hayward, S., Muncey, R. J., James, A. E., Halsall, C. J., and Hewitt, C. N. (2001). Monoterpene emissions from soil in a Sitka spruce forest. *Atmospheric Environment*, 35(24) :4081–4087.
- Höckelmann, C., Moens, T., and Jüttner, F. (2004). Odor compounds from cyanobacterial biofilms acting as attractants and repellents for free-living nematodes. *Limnology and Oceanography*, 49(5) :1809–1819.
- Hendry, A. P. and Kinnison, M. T. (1999). Perspective : the pace of modern life : measuring rates of contemporary microevolution. *Evolution*, 53(6) :1637–1653.
- Herlemann, D. P., Labrenz, M., Jürgens, K., Bertilsson, S., Waniek, J. J., and Andersson, A. F. (2011). Transitions in bacterial communities along the 2000 km salinity gradient of the Baltic Sea. *The ISME journal*, 5(10) :1571.
- Högberg, M. N., Högberg, P., and Myrold, D. D. (2006). Is microbial community composition in boreal forest soils determined by pH, C-to-N ratio, the trees, or all three? *Oecologia*, 150(4) :590–601.
- Hoegh-Guldberg, O. and Bruno, J. F. (2010). The Impact of Climate Change on the World’s Marine Ecosystems. *Science*, 328(5985) :1523–1528.

- Hoffmann, T., Odum, J. R., Bowman, F., Collins, D., Klockow, D., Flagan, R. C., and Seinfeld, J. H. (1997). Formation of organic aerosols from the oxidation of biogenic hydrocarbons. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 26(2) :189–222.
- Holopainen, J. K. and Gershenzon, J. (2010). Multiple stress factors and the emission of plant VOCs. *Trends in Plant Science*, 15(3) :176–184.
- Holzinger, R., Warneke, C., Hansel, A., Jordan, A., Lindinger, W., Scharffe, D. H., Schade, G. W., and Crutzen, P. J. (1999). Biomass Burning as a Source of Formaldehyde, Acetaldehyde, Methanol, Acetone, Acetonitrile and Hydrogen Cyanide. *Geophysical Research Letters*, 26(8) :1161–1164.
- Howden, S. M., Soussana, J.-F., Tubiello, F. N., Chhetri, N., Dunlop, M., and Meinke, H. (2007). Adapting agriculture to climate change. *Proceedings of the national academy of sciences*, 104(50) :19691–19696.
- Huang, J., Cardoza, Y. J., Schmelz, E. A., Raina, R., Engelberth, J., and Tumlinson, J. H. (2003). Differential volatile emissions and salicylic acid levels from tobacco plants in response to different strains of *Pseudomonas syringae*. *Planta*, 217(5) :767–775.
- Hung, R., Lee, S., and Bennett, J. W. (2013). *Arabidopsis thaliana* as a model system for testing the effect of *Trichoderma* volatile organic compounds. *Fungal Ecology*, 6(1) :19–26.
- Hwang, B.-F. (2005). Traffic related air pollution as a determinant of asthma among Taiwanese school children. *Thorax*, 60(6) :467–473.
- Insam, H. and Seewald, M. S. A. (2010). Volatile organic compounds (VOCs) in soils. *Biology and Fertility of Soils*, 46(3) :199–213.
- IPCC (2001). *Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) : Climate Change : The Scientific Basis*.
- IPCC (2013). Chapter 8 : Anthropogenic and Natural Radiative Forcing. In *Climate Change 2013 : The Physical Science Basis*.
- Isidorov, V. and Jdanova, M. (2002). Volatile organic compounds from leaves litter. *Chemosphere*, 48 :975–979.
- Izaurrealde, R. C., McGill, W. B., Rosenberg, N. J., and Schlesinger, W. H. (2000). Carbon Cost of Applying Nitrogen Fertilizer. *Science*, 288(5467) :811–811.
- Jacob, D. J., Field, B. D., Jin, E. M., Bey, I., Li, Q., Logan, J. A., and Yantosca, R. M. (2002). Atmospheric budget of acetone. *Journal of Geophysical Research*, 107(D10).
- Jacobson, M. Z. (2009). Review of solutions to global warming, air pollution, and energy security. *Energy Environ. Sci.*, 2(2) :148–173.
- Jangid, K., Williams, M. A., Franzluebbers, A. J., Sanderlin, J. S., Reeves, J. H., Jenkins, M. B., Endale, D. M., Coleman, D. C., and Whitman, W. B. (2008). Relative impacts

- of land-use, management intensity and fertilization upon soil microbial community structure in agricultural systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(11) :2843–2853.
- Jia, Z. and Conrad, R. (2009). Bacteria rather than Archaea dominate microbial ammonia oxidation in an agricultural soil. *Environmental Microbiology*, 11(7) :1658–1671.
- Jones, T. H., Thompson, L. J., Lawton, J. H., Bezemer, T. M., Bardgett, R. D., Blackburn, T. M., Bruce, K. D., and Cannon, P. F. (1998). Impacts of Rising Atmospheric Carbon Dioxide on Model Terrestrial Ecosystems. *Science*, 280 :441–443.
- Jordan, C., Fitz, E., Hagan, T., Sive, B., Frinak, E., Haase, K., Cottrell, L., Buckley, S., and Talbot, R. (2009). Long-term study of VOCs measured with PTR-MS at a rural site in New Hampshire with urban influences. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 9(14) :4677–4697.
- Kampa, M. and Castanas, E. (2008). Human health effects of air pollution. *Environmental Pollution*, 151(2) :362–367.
- Kansal, A. (2009). Sources and reactivity of NMHCs and VOCs in the atmosphere : A review. *Journal of Hazardous Materials*, 166(1) :17–26.
- Katsouyanni, K., Touloumi, G., Samoli, E., Gryparis, A., Le Tertre, A., Monopolis, Y., Rossi, G., Zmirou, D., Ballester, F., Boumghar, A., and others (2001). Confounding and effect modification in the short-term effects of ambient particles on total mortality : results from 29 European cities within the APHEA2 project. *Epidemiology*, 12(5) :521–531.
- Kesselmeier, J., Ciccioli, P., Kuhn, U., Stefani, P., Biesenthal, T., Rottenberger, S., Wolf, A., Vitullo, M., Valentini, R., Nobre, A., and others (2002). Volatile organic compound emissions in relation to plant carbon fixation and the terrestrial carbon budget. *Global Biogeochemical Cycles*, 16(4) :73–1.
- Kesselmeier, J. and Staudt, M. (1999). Biogenic Volatile Organic Compounds (VOC) : An Overview on Emissions, Physiology and Ecology. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 33 :23–88.
- Kim, L., Galbally, I. E., Porter, N., Weeks, I. A., and Lawson, S. J. (2011). BVOC emissions from mechanical wounding of leaves and branches of *Eucalyptus sideroxylon* (red ironbark). *Journal of Atmospheric Chemistry*, 68(3) :265–279.
- Kleinheinz, G. T., Bagley, S. T., St. John, W. P., Rughani, J. R., and McGinnis, G. D. (1999). Characterization of alpha-pinene-degrading microorganisms and application to a bench-scale biofiltration system for VOC degradation. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 37(2) :151–157.
- Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M., and Glockner, F. O. (2013). Evaluation of general 16s ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Research*, 41(1) :e1–e1.

- König, G., Brunda, M., Puxbaum, H., Hewitt, C. N., Duckham, S. C., and Rudolph, J. (1994). Relative contribution of oxygenated hydrocarbons to the total biogenic VOC emissions of selected mid-european agricultural and natural plant species. *Atmospheric Environment*, 29(8) :1352–2310.
- Koleff, P., Gaston, K. J., and Lennon, J. J. (2003). Measuring beta diversity for presence-absence data. *Journal of Animal Ecology*, 72(3) :367–382.
- Kästner, M., Breuer-Jammali, M., and Mahro, B. (1998). Impact of inoculation protocols, salinity, and pH on the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and survival of PAH-degrading bacteria introduced into soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(1) :359–362.
- Ladlie, J. S., Meggitt, W. F., and Penner, D. (1976). Effect of soil pH on microbial degradation, adsorption, and mobility of metribuzin. *Weed Science*, 24(5) :477–481.
- Lal, R. (2004a). Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security. *science*, 304(5677) :1623–1627.
- Lal, R. (2004b). Soil carbon sequestration to mitigate climate change. *Geoderma*, 123(1-2) :1–22.
- Lamb, B., Gay, D., Westberg, H., and Pierce, T. (1993). A biogenic hydrocarbon emission inventory for the U.S.A using a simple forest canopy model. *Atmospheric Environment*, 27A(11) :16673–1690.
- Lamb, B., Guenther, A., Gay, D., and Westberg, H. (1987). A national inventory of biogenic hydrocarbon emissions. *Atmospheric Environment (1967)*, 21(8) :1695–1705.
- Lamsen, E. N. and Atsumi, S. (2012). Recent progress in synthetic biology for microbial production of C3–C10 alcohols. *Frontiers in Microbiology*, 3.
- Lang, I., Bruckner, T., and Triebig, G. (2008). Formaldehyde and chemosensory irritation in humans : A controlled human exposure study. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 50(1) :23–36.
- Langford, B., Davison, B., Nemitz, E., and Hewitt, C. N. (2009). Mixing ratios and eddy covariance flux measurements of volatile organic compounds from an urban canopy (Manchester, UK). *Atmospheric Chemistry and Physics*, 9(6) :1971–1987.
- Laothawornkitkul, J., Taylor, J. E., Paul, N. D., and Hewitt, C. N. (2009). Biogenic volatile organic compounds in the Earth system. *New Phytologist*, 183(1) :27–51.
- Lathière, J., Hauglustaine, D. A., De Noblet-Ducoudré, N., Krinner, G., and Folberth, G. A. (2005). Past and future changes in biogenic volatile organic compound emissions simulated with a global dynamic vegetation model. *Geophysical Research Letters*, 32(20).
- Laturnus, F. (1996). Volatile halocarbons released from Arctic macroalgae. *Marine Chemistry*, 55(3-4) :359–366.

- Lauber, C. L., Hamady, M., Knight, R., and Fierer, N. (2009). Pyrosequencing-Based Assessment of Soil pH as a Predictor of Soil Bacterial Community Structure at the Continental Scale. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(15) :5111–5120.
- Lauber, C. L., Strickland, M. S., Bradford, M. A., and Fierer, N. (2008). The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(9) :2407–2415.
- Leff, J. W. and Fierer, N. (2008). Volatile organic compound (VOC) emissions from soil and litter samples. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(7) :1629–1636.
- Leifeld, J. and von Lützow, M. (2014). Chemical and microbial activation energies of soil organic matter decomposition. *Biology and Fertility of Soils*, 50(1) :147–153.
- Leighton, P. (2012). *Photochemistry of Air Pollution*. Elsevier.
- Lemfack, M. C., Nickel, J., Dunkel, M., Preissner, R., and Piechulla, B. (2014). mVOC : a database of microbial volatiles. *Nucleic Acids Research*, 42(D1) :D744–D748.
- Lindinger, W., Hansel, A., and Jordan, A. (1998). On-line monitoring of volatile organic compounds at pptv levels by means of Proton-Transfer-Reaction Mass Spectrometry (PTR-MS) Medical applications, food control and environmental research. *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes*, 173 :191–241.
- Liu, B., Gumpertz, M. L., Hu, S., and Ristaino, J. B. (2007). Long-term effects of organic and synthetic soil fertility amendments on soil microbial communities and the development of southern blight. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(9) :2302–2316.
- Liu, Y., Shao, M., Lu, S., Chang, C.-c., Wang, J.-L., and Chen, G. (2008). Volatile organic compound (VOC) measurements in the Pearl River Delta (PRD) region, China. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 8(6) :1531–1545.
- Llusià, J. and Peñuelas, J. (2000). Seasonal Patterns of Terpene Content and Emission From seven Mediterranean woody species in field conditions. *American Journal of Botany*, 87(1) :133–144.
- Llusià, J., Peñuelas, J., and Gimeno, B. S. (2002). Seasonal and species-specific response of VOC emissions by Mediterranean woody plant to elevated ozone concentrations. *Atmospheric Environment*, 36(24) :3931–3938.
- Lobert, J. M., Scharffe, D. H., Hao, W. M., and Crutzen, P. J. (1990). Importance of biomass burning in the atmospheric budgets of nitrogen-containing gases. *Nature*, 346.
- Ludley, K. E., Jickells, S. M., Chamberlain, P. M., Whitaker, J., and Robinson, C. H. (2009). Distribution of monoterpenes between organic resources in upper soil horizons under monocultures of *Picea abies*, *Picea sitchensis* and *Pinus sylvestris*. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(6) :1050–1059.

- Luo, Y. M., Christie, P., and Baker, A. J. M. (2000). Soil solution Zn and pH dynamics in non-rhizosphere soil and in the rhizosphere of *Thlaspi caerulescens* grown in a Zn/Cd-contaminated soil. *Chemosphere*, 41(1) :161–164.
- Lupwayi, N. Z., Rice, W. A., and Clayton, G. W. (1998). Soil microbial diversity and community structure under wheat as influenced by tillage and crop rotation. *Soil Biology and Biochemistry*, 30(13) :1733–1741.
- Magoc, T. and Salzberg, S. L. (2011). FLASH : fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, 27(21) :2957–2963.
- Mahé, F., Rognes, T., Quince, C., de Vargas, C., and Dunthorn, M. (2014). Swarm : robust and fast clustering method for amplicon-based studies. *PeerJ*, 2 :e593.
- Mancuso, S., Taiti, C., Bazihizina, N., Costa, C., Menesatti, P., Giagnoni, L., Arenella, M., Nannipieri, P., and Renella, G. (2015). Soil volatile analysis by proton transfer reaction-time of flight mass spectrometry (PTR-TOF-MS). *Applied Soil Ecology*, 86 :182–191.
- Manley, S. L. (2002). Phytogenesis of halomethanes : A product of selection or a metabolic accident ? *Biogeochemistry*, 60(2) :163–180.
- Marcato, C.-E., Mohtar, R., Revel, J.-C., Pouech, P., Hafidi, M., and Guirese, M. (2009). Impact of anaerobic digestion on organic matter quality in pig slurry. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 63(3) :260–266.
- Marschner, P. (2003). Structure and function of the soil microbial community in a long-term fertilizer experiment. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(3) :453–461.
- Martin, M. (2011). Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet. journal*, 17(1) :pp–10.
- McNeal, K. S. and Herbert, B. E. (2009). Volatile Organic Metabolites as Indicators of Soil Microbial Activity and Community Composition Shifts. *Soil Science Society of America Journal*, 73(2) :579.
- Mellouki, A., Wallington, T. J., and Chen, J. (2015). Atmospheric Chemistry of Oxygenated Volatile Organic Compounds : Impacts on Air Quality and Climate. *Chemical Reviews*, 115(10) :3984–4014.
- Misra, G., Pavlostathis, S. G., Perdue, E. M., and Araujo, R. (1996). Aerobic biodegradation of selected monoterpenes. *Applied microbiology and biotechnology*, 45(6) :831–838.
- Müller, A., Faubert, P., Hagen, M., zu Castell, W., Polle, A., Schnitzler, J.-P., and Rosenkranz, M. (2013). Volatile profiles of fungi – Chemotyping of species and ecological functions. *Fungal Genetics and Biology*, 54 :25–33.

- Moldrup, P., Olesen, T., Schjonning, P., Yamaguchi, T., and Rolston, D. E. (2000). Prediction of the Gas diffusion Coefficient in Undisturbed soil from Soil Water Characteristics. *Soil Science Society of America Journal*, 64 :94–100.
- mondiale de la Santé, O. (2003). Communiqué de presse n°221 : La pollution atmosphérique une des premières causes environnementales de décès par cancer, selon le CIRC.
- Morozov, G., Breus, V., Nekludov, S., and Breus, I. (2014). Sorption of volatile organic compounds and their mixtures on montmorillonite at different humidity. *Colloids and Surfaces A : Physicochemical and Engineering Aspects*, 454 :159–171.
- Morrissey, F. A. and Grismer, M. E. (1999). Kinetics of volatile organic compound sorption/desorption on clay minerals. *Journal of Contaminant Hydrology*, 36(3) :291–312.
- Moularat, S., Robine, E., Ramalho, O., and Oturan, M. (2008). Detection of fungal development in a closed environment through the identification of specific VOC : Demonstration of a specific VOC fingerprint for fungal development. *Science of The Total Environment*, 407(1) :139–146.
- Mudway, I. S. and Kelly, F. J. (2000). Ozone and the lung : a sensitive issue. *Molecular aspects of medicine*, 21(1) :1–48.
- Naeher, L. P., Brauer, M., Lipsett, M., Zelikoff, J. T., Simpson, C. D., Koenig, J. Q., and Smith, K. R. (2007). Woodsmoke Health Effects : A Review. *Inhalation Toxicology*, 19(1) :67–106.
- Nkoa, R. (2014). Agricultural benefits and environmental risks of soil fertilization with anaerobic digestates : a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 34(2) :473–492.
- Novak, J. T., Goldsmith, C. D., Benoit, R. E., and O'Brien, J. H. (1985). Biodegradation of Methanol and Tertiary Butyl Alcohol in Subsurface Systems. *Water Science and Technology*, 17(9) :71–85.
- Obi, M. E. and Ebo, P. O. (1995). The effects of organic and inorganic amendments on soil physical properties and maize production in a severely degraded sandy soil in southern Nigeria. *Bioresource Technology*, 51(2-3) :117–123.
- Oderbolz, D. C., Aksoyoglu, S., Keller, J., Barmpadimos, I., Steinbrecher, R., Skjøth, C. A., Plaß-Dülmer, C., and Prévôt, A. S. H. (2013). A comprehensive emission inventory of biogenic volatile organic compounds in Europe : improved seasonality and land-cover. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 13(4) :1689–1712.
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P. R., O'Hara, R. B., Simpson, G. L., Solymos, P., Stevens, M. H. H., and Wagner, H. (2015). *vegan : Community Ecology Package*. R package version 2.3-2.

- Orlikowska, A. and Schulz-Bull, D. E. (2009). Seasonal variations of volatile organic compounds in the coastal Baltic sea. *Environmental Chemistry*, 6(6) :495–507.
- Pagliai, M., Guidi, G., La Marca, M., Giachetti, M., and Lucamante, G. (1981). Effects of Sewage Sludges and Composts on Soil Porosity and Aggregation1. *Journal of Environmental Quality*, 10(4) :556–561.
- Panagiotou, G., Topakas, E., Moukouli, M., Christakopoulos, P., and Olsson, L. (2011). Studying the ability of *Fusarium oxysporum* and recombinant *Saccharomyces cerevisiae* to efficiently cooperate in decomposition and ethanolic fermentation of wheat straw. *Biomass and Bioenergy*, 35(8) :3727–3732.
- Paré, P. W. and Tumlinson, J. H. (1999). Plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant physiology*, 121(2) :325–332.
- Paustian, K., Six, J., Elliott, E. T., and Hunt, H. W. (2000). Management options for reducing CO₂ emissions from agricultural soils. *Biogeochemistry*, 48(1) :147–163.
- Peet, R. K. (1974). The Measurement of Species Diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 5(1) :285–307.
- Petersen, L. W., Moldrup, P., El-Farhan, Y. H., Jacobsen, O. H., Yamaguchi, T., and Rolston, D. E. (1995). The effect of moisture and soil texture on the adsorption of organic vapors. *Journal of environmental quality*, 24(4) :752–759.
- Peñuelas, J., Asensio, D., Tholl, D., Wenke, K., Rosenkranz, M., Piechulla, B., and Schnitzler, J. (2014). Biogenic volatile emissions from the soil. *Plant, Cell & Environment*, 37(8) :1866–1891.
- Peñuelas, J. and Llusà, J. (2002). Linking photorespiration, monoterpenes and thermotolerance in *Quercus*. *New Phytologist*, 155(2) :227–237.
- Peñuelas, J. and Llusà, J. (2004). Plant VOC emissions : making use of the unavoidable. *Trends in Ecology & Evolution*, 19(8) :402–404.
- Peñuelas, J. and Staudt, M. (2009). BVOCs and global change. *Trends in Plant Science*, 15(3) :133–144.
- Pichersky, E. and Gershenzon, J. (2002). The formation and function of plant volatiles : perfumes for pollinator attraction and defense. *Current opinion in plant biology*, 5(3) :237–243.
- Pope III, C. A., Burnett, R. T., Thurston, G. D., Thun, M. J., Calle, E. E., Krewski, D., and Godleski, J. J. (2003). Cardiovascular Mortality and Long-Term Exposure to Particulate Air Pollution : Epidemiological Evidence of General Pathophysiological Pathways of Disease. *Circulation*, 109(1) :71–77.
- Post, W. M. and Kwon, K. C. (2000). Soil carbon sequestration and land-use change : processes and potential. *Global change biology*, 6(3) :317–327.

- Potard, K., Monard, C., Le Garrec, J.-L., Caudal, J.-P., Le Bris, N., and Binet, F. (2017). Organic amendment practices as possible drivers of biogenic Volatile Organic Compounds emitted by soils in agrosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 250 :25–36.
- R. Henrik Nilsson, Erik Kristiansson, M. R. N. H. K.-H. L. (2008). Intraspecific its variability in the kingdom fungi as expressed in the international sequence databases and its implications for molecular species identification. *Evolutionary Bioinformatics*, 4 :193–201.
- Ramanathan, V. and Feng, Y. (2009). Air pollution, greenhouse gases and climate change : Global and regional perspectives. *Atmospheric Environment*, 43(1) :37–50.
- Ramirez, K. S., Lauber, C. L., and Fierer, N. (2010). Microbial consumption and production of volatile organic compounds at the soil-litter interface. *Biogeochemistry*, 99(1-3) :97–107.
- Reddy, A. R., Rasineni, G. K., and Raghavendra, A. S. (2010). The impact of global elevated CO₂ concentration on photosynthesis and plant productivity. *Current Science*, 99(1) :46–57.
- Redeker, K. R., Baird, A. J., and Teh, Y. A. (2015). Quantifying wind and pressure effects on trace gas fluxes across the soil–atmosphere interface. *Biogeosciences Discussions*, 12(6) :4801–4832.
- Rinnan, R., Gierth, D., Bilde, M., Rosenorn, T., and Michelsen, A. (2013). Off-season biogenic volatile organic compound emissions from heath mesocosms : responses to vegetation cutting. *Frontiers in Microbiology*, 4.
- Ritz, K., Wheatley, R. E., and Griffiths, B. S. (1997). Effects of animal manure application and crop plants upon size and activity of soil microbial biomass under organically grown spring barley. *Biology and Fertility of Soils*, 24(4) :372–377.
- Rolston, D. E. and Moldrup, P. (2012). Gas transport in soils. In *Handbook of Soil Sciences, properties and Process*. P.M. Huang, Y. Li & M.E. Sumner, Boca Raton, FL, crc press edition.
- Rousk, J., Brookes, P. C., and Bååth, E. (2010). The microbial PLFA composition as affected by pH in an arable soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(3) :516–520.
- Ruiz, J., Bilbao, R., and Murillo, M. B. (1998). Adsorption of different VOC onto soil Minerals from gas phase : influence of Minerals, Type of VOC, and Air Humidity. *Environmental Science & Technology*, 32(8) :1079–1084.
- Ryu, C.-M., Farag, M. A., Hu, C.-H., Reddy, M. S., Wei, H.-X., Paré, P. W., and Kloepper, J. W. (2003). Bactrial volatiles promote growth in arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100 :4927–4932.

- Ryu, C.-M., Farag, M. A., Paré, P. W., and Kloepper, J. W. (2005). Invisible signals from the underground : bacterial volatiles elicit plant growth promotion and induce systemic resistance. *Plant Pathol J*, 21 :7–12.
- Sainju, U. M., Jabro, J. D., and Stevens, W. B. (2008). Soil Carbon Dioxide Emission and Carbon Content as Affected by Irrigation, Tillage, Cropping System, and Nitrogen Fertilization. *Journal of Environmental Quality*, 37(1) :98–106.
- Santoro, M. V., Zygadlo, J., Giordano, W., and Banchio, E. (2011). Volatile organic compounds from rhizobacteria increase biosynthesis of essential oils and growth parameters in peppermint (*Mentha piperita*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(10) :1177–1182.
- Sarathchandra, S. U., Ghani, A., Yeates, G. W., Burch, G., and Cox, N. R. (2001). Effect of nitrogen and phosphate fertilisers on microbial and nematode diversity in pasture soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(7) :953–964.
- Scanlon, B. R., Nicot, J. P., and Massmann, J. W. (2002). Soil Gas Movement in Unsaturated Systems. In *Soil Physics Companion*. A. W. Warrick, Boca Raton, FL, crc press edition.
- Schade, G. W. and Custer, T. G. (2004). OVOC emissions from agricultural soil in northern Germany during the 2003 European heat wave. *Atmospheric Environment*, 38(36) :6105–6114.
- Schall, C., Heumann, K. G., and Kirst, G. O. (1997). Biogenic volatile organoiodine and organobromine hydrocarbons in the Atlantic Ocean from 42 N to 72 S. *Fresenius' journal of analytical chemistry*, 359(3) :298–305.
- Schiestl, F. P., Ayasse, M., Paulus, H. F., Löfstedt, C., Hansson, B. S., Ibarra, F., and Francke, W. (1999). Orchid pollination by sexual swindle. *Nature*, 399(6735) :421.
- Schimel, J. (1995). Ecosystem consequences of microbial diversity and community structure. In *Arctic and Alpine Biodiversity : Patterns, Causes and Ecosystem Consequences*, number 113 in Ecological Studies, pages 239–254. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1 edition.
- Schulz, S. and Dickschat, J. S. (2007). Bacterial volatiles : the smell of small organisms. *Natural Product Reports*, 24(4) :814.
- Seco, R., Peñuelas, J., and Filella, I. (2007). Short-chain oxygenated VOCs : Emission and uptake by plants and atmospheric sources, sinks, and concentrations. *Atmospheric Environment*, 41(12) :2477–2499.
- Seewald, M. S. A., Singer, W., Knapp, B. A., Franke-Whittle, I. H., Hansel, A., and Insam, H. (2010). Substrate-induced volatile organic compound emissions from compost-amended soils. *Biology and Fertility of Soils*, 46(4) :371–382.

- Seinfeld, J. H. and Pankow, J. F. (2003). Organic Atmospheric Particulate Material. *Annual Review of Physical Chemistry*, 54(1) :121–140.
- Sierra, C. A. (2012). Temperature sensitivity of organic matter decomposition in the Arrhenius equation : some theoretical considerations. *Biogeochemistry*, 108(1-3) :1–15.
- Sih, A., Ferrari, M. C. O., and Harris, D. J. (2011). Evolution and behavioural responses to human-induced rapid environmental change : Behaviour and evolution. *Evolutionary Applications*, 4(2) :367–387.
- Singh, B. K., Walker, A., Morgan, J. A. W., and Wright, D. J. (2003a). Effects of Soil pH on the Biodegradation of Chlorpyrifos and Isolation of a Chlorpyrifos-Degrading Bacterium. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(9) :5198–5206.
- Singh, H., Chen, Y., Tabazadeh, A., Fukui, Y., Bey, I., Yantosca, R., Jacob, D., Arnold, F., Wohlform, K., Atlas, E., Flocke, F., Blake, D., Blake, N., Heikes, B., Snow, J., Talbot, R., Gregory, G., Sachse, G., Vay, S., and Kondo, Y. (2000). Distribution and fate of selected oxygenated organic species in the troposphere and lower stratosphere over the Atlantic. *Journal of Geophysical Research*, 105(D3) :3795–3805.
- Singh, H. B., Salas, L. J., Chatfield, R. B., Czech, E., Fried, A., Walega, J., Evans, M. J., Field, B. D., Jacob, D. J., Blake, D., Heikes, B., Talbot, R., Sachse, G., Crawford, J. H., Avery, M. A., Sandholm, S., and Fuelberg, H. (2004). Analysis of the atmospheric distribution, sources, and sinks of oxygenated volatile organic chemicals based on measurements over the Pacific during TRACE-P. *Journal of Geophysical Research*, 109(D15S07).
- Singh, H. B., Tabazadeh, A., Evans, M. J., Field, B. D., Jacob, D. J., Sachse, G., Crawford, J. H., Shetter, R., and Brune, W. H. (2003b). Oxygenated volatile organic chemicals in the oceans : Inferences and implications based on atmospheric observations and air-sea exchange models : OXYGENATED VOLATILE ORGANIC CHEMICALS IN THE OCEANS. *Geophysical Research Letters*, 30(16).
- Singsaas, E. L. and Sharkey, T. D. (1998). The regulation of isoprene emission responses to rapid leaf temperature fluctuations. *Plant, Cell & Environment*, 21(11) :1181–1188.
- Sinha, V., Williams, J., Meyerhöfer, M., Riebesell, U., Paulino, A. I., and Larsen, A. (2007). Air-sea fluxes of methanol, acetone, acetaldehyde, isoprene and DMS from a Norwegian fjord following a phytoplankton bloom in a mesocosm experiment. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 7(3) :739–755.
- Six, J., Frey, S. D., Thiet, R. K., and Batten, K. M. (2006). Bacterial and Fungal Contributions to Carbon Sequestration in Agroecosystems. *Soil Science Society of America Journal*, 70(2) :555–569.
- Six, J., Ogle, S. M., Jay breidt, F., Conant, R. T., Mosier, A. R., and Paustian, K. (2004).

- The potential to mitigate global warming with no-tillage management is only realized when practised in the long term. *Global Change Biology*, 10(2) :155–160.
- Smet, E., Van Langenhove, H., and De Bo, I. (1999). The emission of volatile compounds during the aerobic and the combined anaerobic/aerobic composting of biowaste. *Atmospheric Environment*, 33(8) :1295–1303.
- Solmon, F., Sarrat, C., Serça, D., Tulet, P., and Rosset, R. (2004). Isoprene and monoterpenes biogenic emissions in France : modeling and impact during a regional pollution episode. *Atmospheric Environment*, 38(23) :3853–3865.
- Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Alley, R. B., Bernsten, T., Bindoff, N. L., and et al. Technical summary. (2007). Climate Change 2007 : The Physical Science Basis. In *Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, pages 19 – 91. Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Averyt K, Tignor M, Miller HL, editors., Cambridge, UK/ New York, NY, cambridge university press edition.
- Stahl, P. D. and Parkin, T. B. (1996). Microbial production of volatile organic compounds in soil microcosms. *Soil Science Society of America Journal*, 60(3) :821–828.
- Stotzky, G. and Schenck, S. (1976). Volatile organic compounds and microorganisms. *Critical Reviews in Microbiology*, 4(4) :333–382.
- Tager, I. B., Balmes, J., Lurmann, F., Ngo, L., Alcorn, S., and K ? ?nzli, N. (2005). Chronic Exposure to Ambient Ozone and Lung Function in Young Adults. *Epidemiology*, 16(6) :751–759.
- ten Hulscher, T. E. and Cornelissen, G. (1996). effect of temperature on sorption equilibrium and sorption kinetics of organic micropollutants - a review. *Chemosphere*, 32(4) :609–626.
- Tenenhaus, A. and Guillemot, V. (2013). RGCCA : RGCCA and Sparse GCCA for multi-block data analysis.
- Thies, J. E. and Grossman, J. M. (2006). The soil habitat and soil ecology. In *Biological approaches to sustainable soil systems*, volume 59, pages 60–78. Norman Uphoff, USA, crc press edition.
- Tiiva, P., Faubert, P., Michelsen, A., Holopainen, T., Holopainen, J. K., and Rinnan, R. (2008). Climatic warming increases isoprene emission from a subarctic heath. *New Phytologist*, 180(4) :853–863.
- Uteau, D., Pagenkemper, S. K., Peth, S., and Horn, R. (2013). Root and time dependent soil structure formation and its influence on gas transport in the subsoil. *Soil and Tillage Research*, 132 :69–76.
- Van Dingenen, R., Dentener, F. J., Raes, F., Krol, M. C., Emberson, L., and Cofala, J. (2009). The global impact of ozone on agricultural crop yields under current and future air quality legislation. *Atmospheric Environment*, 43(3) :604–618.

- van Roon, A., Parsons, J. R., Krap, L., and Govers, H. A. (2005). Fate and transport of monoterpenes through soils. Part II : Calculation of the effect of soil temperature, water saturation and organic carbon content. *Chemosphere*, 61(1) :129–138.
- Vance, E., Brookes, P., and Jenkinson, D. (1987). An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, 19(6) :703–707.
- Venables, W. N. and Ripley, B. D. (2002). *Modern Applied Statistics with S*. Springer, fourth edition.
- Veres, P. R., Behrendt, T., Klapthor, A., Meixner, F. X., and Williams, J. (2014). Volatile Organic Compound emissions from soil : using Proton-Transfer-Reaction Time-of-Flight Mass Spectrometry (PTR-TOF-MS) for the real time observation of microbial processes. *Biogeosciences Discussions*, 11(8) :12009–12038.
- Vermeulen, S. J., Campbell, B. M., and Ingram, J. S. I. (2012). Climate Change and Food Systems. *Annual Review of Environment and Resources*, 37(1) :195–222.
- Viles, A. L. and Reese, R. N. (1996). Allelopathic potential of *Echinacea angustifolia* DC. *Environmental and Experimental Botany*, 36(1) :39–43.
- Wang, Y., Jacob, D. J., and Logan, J. A. (1998). Global simulation of tropospheric O₃-NO_x-hydrocarbon chemistry 3. Origin of tropospheric ozone and effects of non-methane hydrocarbons. *Journal of Geophysical Research*, 103(D9) :10,757–10,767.
- Warneke, C., Karl, T., Judmaier, H., Hansel, A., Jordan, A., and Lindinger, W. (1999). Acetone, methanol and other partially oxidized volatile organic emissions from dead plant matter by abiological processes : Significance for atmospheric OH_x chemistry. *Global Biogeochemical cycles*, 13(1) :9–17.
- Wayne, R. P., Barnes, I., Biggs, P., Burrows, J. P., Canosa-Mas, C. E., Hjorth, J., Le Bras, G., Moortgat, G. K., Perner, D., Poulet, G., and others (1991). The nitrate radical : physics, chemistry, and the atmosphere. *Atmospheric Environment. Part A. General Topics*, 25(1) :1–203.
- Werner, S., Polle, A., and Brinkmann, N. (2016). Belowground communication : impacts of volatile organic compounds (VOCs) from soil fungi on other soil-inhabiting organisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(20) :8651–8665.
- West, T. O. and Marland, G. (2002). A synthesis of carbon sequestration, carbon emissions, and net carbon flux in agriculture : comparing tillage practices in the United States. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 91 :217–232.
- Wheatley, R. (2002). The consequences of volatile organic compound mediated bacterial and fungal interactions. *Antonie van Leeuwenhoek*, pages 357–364.
- Wheatley, R., Hackett, C., Bruce, A., and Kundzewicz, A. (1997). Effect of Substrate Composition on Production of Volatile Organic Compounds from *Trichoderma* spp.

- Inhibitory to Wood Decay Fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 39(2-3) :199–205.
- Wheatley, R. E., Millar, S. E., and Griffiths, D. W. (1996). The production of volatile organic compounds during nitrogen transformation in soils. *Plant and Soil*, 181 :163–167.
- Wilkins, K., Larsen, K., and Simkus, M. (2000). Volatile metabolites from mold growth on building materials and synthetic media. *Chemosphere*, 41(3) :437–446.
- Wittig, V. E., Ainsworth, E. A., Naidu, S. L., Karnosky, D. F., and Long, S. P. (2009). Quantifying the impact of current and future tropospheric ozone on tree biomass, growth, physiology and biochemistry : a quantitative meta-analysis. *Global Change Biology*, 15(2) :396–424.
- WMO (1995). *Scientific Assessment of Ozone Depletion : 1994*, volume Report No. 37. World Meteorological Organization Global Ozone Research and Monitoring Project, Geneva, Switzerland,.
- Wolfe, G. V., Steinke, M., and Kirst, G. O. (1997). Grazing-activated chemical defence in a unicellular marine alga. *Nature*, 387(26) :894–897.
- Wuebbles, D. J. and Hayhoe, K. (2002). Atmospheric methane and global change. *Earth-Science Reviews*, 57 :177–210.
- Zak, J. C., Willig, M. R., Moorhead, D. L., and Wildman, H. G. (1994). Functional diversity of microbial communities : a quantitative approach. *Soil Biology and Biochemistry*, 26(9) :1101–1108.
- Zhao, J., Wang, Z., Wu, T., Wang, X., Dai, W., Zhang, Y., Wang, R., Zhang, Y., and Shi, C. (2016). Volatile organic compound emissions from straw-amended agricultural soils and their relations to bacterial communities : A laboratory study. *Journal of Environmental Sciences*.
- Zhu, J., Bean, H. D., Kuo, Y.-M., and Hill, J. E. (2010). Fast Detection of Volatile Organic Compounds from Bacterial Cultures by Secondary Electrospray Ionization-Mass Spectrometry. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(12) :4426–4431.
- Zsolnay, A. and Görlitz, H. (1994). Water extractable organic matter in arable soils : effects of drought and long-term fertilization. *Soil Biology and Biochemistry*, 26(9) :1257–1261.

Annexe A

Les financements obtenus au cours de ce travail

Plusieurs programmes sont venus soutenir financièrement ce projet d'étude et de thèse. Cela a commencé par le CPER "modernisation des équipements" qui a permis l'achat du PTR-MS (PTR-MS Ionicon, QMS 300) et d'un projet défi émergent de l'université de Rennes 1 qui a financé une partie du développement technique de la chambre de prélèvement permis de réaliser les échantillonnages a été engagé grâce aux financements de la ZAAr et de EFELE et des appels à projets de l'OSUR 1 qui soutiennent les actions interdisciplinaires. L'ensemble des analyses physico-chimiques et génomiques ont été payé par les programmes Enviromics et COVOMICS de Ecosphère Continentale et Côtière (EC2CO). Le projet de recherche auquel la thèse se rattache bénéficie du concours du CPER BUFON pour l'acquisition d'un cryoconcentrateur qui, couplé à une GC, permet l'identification moléculaire des COVs et vient compléter les analyses effectuées au PTR-MS.

Annexe B

Formations et valorisation durant la thèse

FORMATIONS SUIVIES - ACTIVITÉS

Formations suivies

Formation à l'utilisation du PTR-MS – LSCE – 2 jours

Formation insertion professionnelle – IPR à Rennes – 2 fois 2 jours

Table ronde → La recherche en R&D – AgroCampus Ouest – 1/2 journée

Workshop IONICON → formation à l'utilisation et à l'entretien du PTR-MS – Innsbruck (Autriche) – 5 jours

Participation à l'Encadrement du stage de M2 de Alizée Le Moigne

Participation à l'Encadrement du stage de M1 de Thomas Soldano

Activités (autres que formations) / réalisations

Participation à l'ensemble des AG de ECOBIO

Présentation du développement technique dans un séminaire technique d'ECOBIO.

Présentation des premiers résultats du projet de thèse à l'AG du réseau ZAAr (Zone-Atelier Armorique)

Restitution des avancées du projet de thèse aux agriculteurs de la ZAAr

Fortes participations à l'organisation de la Doc'Culture (1^{ère} édition) – une dizaine de jours

Animations des RJSE (Réunion des Jeunes Scientifiques d'ECOBIO) – 2h par mois

COMMUNICATIONS ET PUBLICATIONS

Communications

K. Potard, C. Monard, A. Le Moigne, N. Le Bris, J.P. Caudal, J.L. Le Garrec, F. Binet ; Emissions of Volatile Organic Compounds (VOCs) from soil to the atmosphere according to agricultural land-uses. Interrelationships between SOM, microbial diversity and VOCs fluxes; Bageco ; 2014 ; Milan, Italie

K. Potard C. Monard¹, N. Le Bris, J.P. Caudal, J.L. Le Garrec, F. Binet ; Control of active bacterial diversity by organic amendment practices and consequences on volatile organic compound (VOC) emissions from agricultural soil to the atmosphere ; Functional Ecology conference ; 2017 ; La Grande Motte ; France

K. Potard C. Monard¹, N. Le Bris, J.P. Caudal, J.L. Le Garrec, F. Binet ; Response of active bacteria to organic amendment practices and consequences on volatile organic compound (VOC) emissions from agricultural soils ; FEMS ; 2017; Valence, Espagne

K. Potard, C. Monard, N. Le Bris, J.L. Le Garrec, F. Binet ; Exploration des interactions entre les microorganismes du sol, les propriétés édaphiques et les spectres de COVs émis à l'interface sol-atmosphère: vers le développement de la volatilomique; AFEM ; 2017 ; Camaret, France

Publications

K. Potard, C. Monard, A Le Moigne, N. Le Bris, J.P. Caudal, J.L. Le Garrec, F. Binet ; Organic amendment practices as possible drivers of VOC emitted by soil of agrosystems ; Agriculture, Ecosystems and Environment ; publié

Abstract

Volatile Organic Compounds (VOCs) are trace carbonaceous gases emitted in low concentrations from the continental and marine surfaces to the atmosphere. Highly reactive, these compounds are involved in atmospheric chemistry and are at the heart of many current environmental issues such as climate change related to greenhouse gases, air quality and feedback on the functioning of ecosystems. Terrestrial plant cover was previously identified as the main source of VOCs of biogenic origin. But recent studies suggest that soils could be major sources of VOCs. However, in agricultural anthropogenic landscapes, soils are subject to various and varied uses and management and are likely to modify qualitatively and quantitatively the patterns of VOC emissions. Paradoxically, agrosystem soils have been the subject of few inventories of their VOC emissions (compared to NO_x and CH₄). The scarcity of knowledge on the contribution of agrosystems soils in VOC emissions motivated this work of thesis in which three objectives were pursued : i) inventory the spectra and quantify the VOCs fluxes emitted by soils in agricultural landscapes (ii) to determine the role of soil microorganisms in emissions and (iii) to identify the abiotic determinants controlling VOC emissions by soils. A first part of the work has consisted in analyzing the temporal dynamics of VOCs emissions in the field, in two observatory sites representative of the Britain agricultural landscape : the EFELE site (SOERE-PRO) comprising cultivated soils subjected to contrasting fertilization practices (4 different regimes), and the Zone Atelier Armorique (ZAAr) including fertilized permanent meadows and wet meadows characterized by a low degree of anthropization. The second step of the work was conducted in the laboratory to clarify and complete the field observations, two series of laboratory experiments were conducted to manipulate, i) the soil organic carbon source via the input of different model molecules (ii) microbial communities by transplanting natural microbial communities into three distinct soils.

This study has generated technical advances and produced entirely new results concerning both the characterization of spectra and the quantification of biogenic VOC fluxes emitted by soils. Thus, we show, in the laboratory and in the field, that a soil emits about forty masses of which only a few (1 to 4 masses) are dominant. These VOC spectra are also specific to land uses (crop vs meadow) and fertilization practices. We also show that : i) there is a temporality of VOC emissions by soils ranging from 22 to 167 μg of VOCs per $\text{m}^{-2} \text{h}^{-1}$, the winter period is the least emissive and ii) adds that some fertilization practices, such as pig slurry, induce a flux of methanol up to 10 times that observed by soils amended with methanised pig slurry. Regarding the role of soil microorganisms in VOCs production, we demonstrate that the VOCs spectrum is not representative of the phylogenetic diversity of the soil community but rather of the metabolic activity of active microorganisms. As for the exploration of abiotic determinants that can regulate emissions, our results suggest that the addition of organic molecules to the soil induces a rapid change in the VOC spectrum emitted by the soil, ranging from a few hours to a few

days after intake. This modification is dependent on the degree of polymerization of the molecule provided. Thus acetate induces the production of 1-butanol, while it is mainly the production of 2-butanone which is stimulated during the supply of cellulose or lignin. In closing, the integrative and interdisciplinary approach implemented in this thesis work has made it possible to increase knowledge about biogenic VOC emissions by soils. All research suggests that VOC emissions by soils are not negligible. Their key position in terms of issues (chemical, ecological, agronomic, sanitary) requires to be of greater interest and to take them into account in future scenarios of global changes (climate and land uses), especially with regard to emerging practices of soil management in connection with the ecological transition initiated in agriculture. Similarly, the consideration of VOCs emissions in the biogeochemical cycles of carbon and that of nitrogen to better understand the functioning of ecosystems is also discussed in this document.

Résumé

Les composés Organiques Volatils (COVs) sont des gaz carbonés rares, émis en faible concentration depuis les surfaces continentale et marine vers l'atmosphère. Très réactifs, ces composés sont impliqués dans la chimie atmosphérique et sont au cœur de nombreuses problématiques environnementales actuelles telles que le changement climatique lié aux gaz à effet de serre, la qualité de l'air et les rétroactions sur le fonctionnement des écosystèmes. Les couverts végétaux terrestres étaient jusqu'alors identifiés comme les sources principales de COVs d'origine biogénique. Mais, de récentes études suggèrent que les sols pourraient constituer des sources majeures de COVs. Or dans les paysages anthropisés agricoles, les sols sont l'objet d'usages et de gestions divers et variés et sont susceptibles de modifier qualitativement et quantitativement les patrons d'émissions de COVs. Paradoxalement, les sols d'agrosystèmes ont fait l'objet de peu d'inventaires de leurs émissions de COVs (par comparaison au NO_x et CH_4). La rareté des connaissances sur la contribution des sols d'agrosystèmes dans les émissions de COVs a motivé ce travail de thèse dans lequel trois objectifs ont été poursuivis : i) inventorier les spectres et quantifier les flux de COVs émis par les sols dans les paysages agricoles, ii) déterminer le rôle des microorganismes du sol dans les émissions et iii) identifier les déterminants abiotiques régulant les émissions de COVs par les sols. Une première partie du travail a consisté à analyser les dynamiques temporelles d'émissions de COVs sur le terrain, dans deux sites observatoires représentatifs du paysage agricole Breton : le site EFELE (SOERE-PRO) comprenant des sols cultivés soumis à des pratiques de fertilisation contrastées (4 régimes différents), et la Zone Atelier Armorique (ZAAR) comprenant des prairies permanentes fertilisées et des prairies humides caractérisées par un faible degré d'anthropisation. La deuxième partie du travail a été menée en laboratoire pour expliciter et compléter les observations de terrain, deux séries d'expérimentations en laboratoire ont été réalisées permettant de manipuler, i) la source de carbone organique du sol via l'apport de différentes molécules modèles, ii) les communautés microbiennes par la transplantation de communautés microbiennes naturelles dans trois sols distincts.

Cette étude aura permis de générer des avancées techniques et de produire des résultats entièrement novateurs concernant à la fois la caractérisation des spectres et la quantification des flux de COVs biogéniques émis par les sols. Ainsi, nous montrons, en laboratoire et sur le terrain, qu'un sol émet une quarantaine de masses dont seules quelques-unes (1 à 4 masses) sont dominantes. Ces spectres de COVs sont par ailleurs spécifiques des usages des sols (culture vs prairie) et des pratiques de fertilisation. Nous montrons aussi : i) qu'il existe une temporalité des émissions de COVs par les sols allant de 22 à 167 μg de COVs par $\text{m}^{-2} \text{h}^{-1}$, la période hivernale étant la moins émissive et que ii) s'ajoute le fait que certaines pratiques de fertilisation, comme l'apport de lisier de porc, induisent un flux de méthanol pouvant atteindre jusqu'à 10 fois celui qui est observé par les sols amendés avec du digestat de lisier de porc. Concernant, le rôle des microorganismes du sol dans

la production de COVs, nous démontrons que le spectre de COVs n'est pas représentatif de la diversité phylogénétique de la communauté du sol mais plutôt de l'activité métabolique des microorganismes actifs. S'agissant de l'exploration des déterminants abiotiques susceptibles de réguler les émissions, nos résultats suggèrent que l'ajout de molécules organiques au sol, induit un changement rapide dans le spectre de COVs émis par le sol, allant de quelques heures à quelques jours après apport. Cette modification est dépendante du degré de polymérisation de la molécule apportée. Ainsi l'acétate induit la production de 1-butanol, tandis que c'est principalement la production de 2-butanone qui est stimulée lors de l'apport de cellulose ou de lignine. Pour conclure, l'approche intégrative et interdisciplinaire mise en œuvre dans ce travail de thèse a permis d'accroître les connaissances sur les émissions de COVs biogéniques par les sols. L'ensemble des recherches suggère que les émissions de COVs par les sols ne sont pas négligeables. Leur position clé en termes d'enjeux (chimiques, écologiques, agronomiques, sanitaires) requiert de leur porter davantage intérêt et de les prendre en compte dans les scénarii futurs des changements globaux (climatiques et usages de terres) notamment en regard des pratiques émergentes de gestion des sols en lien avec la transition écologique amorcée en agriculture. De même, La prise en compte des émissions de COVs dans les cycles biogéochimiques du Carbone et celui associé de l'azote pour mieux appréhender le fonctionnement des écosystèmes est également discuté dans ce document.